

Tierexperimentelle Untersuchungen zur
loksalanästhetischen Wirkung sowie zur Toxizität von
17 neuen Derivaten des Fomocain

Dissertation

**Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)**

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Claudia Eisentraut
geboren am 05.10.1981
in Gera

und

Tobias Zwenzner
geboren am 23.02.1981
in Zeitz

Gutachter:

1. Prof. Dr. Ch. Fleck, Jena
2. Prof. Dr. J. Lehmann, Jena
3. Prof. Dr. H.-H. Borchert, Berlin

Tag der öffentlichen Verteidigung: 06.02.2007

Inhalt:

Abkürzungsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	1
2	Einleitung.....	3
2.1	Schmerz.....	3
2.2	Geschichte der Lokalanästhesie.....	5
2.3	Struktureigenschaften und Wirkmechanismus der Lokalanästhetika.....	7
2.4	Anwendungsmöglichkeiten der lokalen Anästhesie.....	12
2.5	Toxikologie und Nebenwirkungen der Lokalanästhetika.....	13
2.6	Prüfungen von Lokalanästhetika.....	17
2.7	Fomocain.....	17
2.7.1	Pharmakologische und toxikologische Eigenschaften.....	17
2.7.2	Ergebnisse bisheriger tierexperimenteller Prüfungen von Fomocainderivaten.....	20
3	Ziele der Arbeit.....	22
4	Material und Methoden.....	23
4.1	Testsubstanzen.....	23
4.2	Referenzsubstanz Fomocain.....	24
4.3	Lösungsvermittler.....	28
4.3.1	Tylose.....	28
4.3.2	Propylenglycol.....	28
4.4	Tierexperimentelle Prüfmethoden.....	29
4.4.1	Versuchstiere.....	29
4.4.2	Bestimmung der Oberflächenanästhesie.....	30
4.4.3	Bestimmung der Leitungsanästhesie.....	31
4.4.4	Bestimmung der LD ₅₀	35
4.5	Versuchsablauf.....	36
4.6	Statistische Auswertung.....	37
5	Ergebnisse.....	41
5.1	Bestimmung der lokalanästhetischen Wirksamkeit und Toxizität des Fomocain in Abhängigkeit von der galenischen Zubereitung.....	41
5.2	Bestimmung der Oberflächenanästhesie neuer Fomocainderivate.....	45
5.2.1	C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten.....	45

5.2.2	Andere Morpholinderivate.....	47
5.2.3	Thiofomocaine mit Morpholin- und Diethanolaminstruktur.....	48
5.2.4	Effektive Konzentrationen.....	49
5.3	Bestimmung der Leitungsanästhesie neuer Fomocainderivate.....	52
5.3.1	C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten.....	52
5.3.2	Andere Morpholinderivate.....	54
5.3.3	Thiofomocaine mit Morpholin- und Diethanolaminstruktur.....	54
5.3.4	Effektive Konzentrationen.....	56
5.4	Bestimmung der Parese nach Gabe verschiedener Fomocainzubereitungen und neuer Fomocainderivate.....	58
5.5	Bestimmung der Toxizität der neuen Fomocainderivate.....	59
5.6	Einfluss der Lösungsvermittler Tylose und Propylenglycol auf die lokalanästhetische Wirksamkeit und die Toxizität einiger Fomocainderivate.....	61
6	Diskussion.....	66
6.1	Fomocain.....	66
6.2	Verschiedene Fomocainzubereitungen.....	68
6.3	Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	71
6.3.1	C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten.....	71
6.3.2	Andere Morpholinderivate.....	75
6.3.3	Thiofomocaine mit Morpholin- und Diethanolaminstruktur.....	79
6.4	Einfluss der Lösungsvermittler Tylose und Propylenglycol auf die lokalanästhetische Wirkung und Toxizität einiger Fomocainderivate.....	83
7	Schlussfolgerungen.....	86
8	Literaturverzeichnis.....	87
9	Anhang.....	97
9.1	Oberflächenanästhesie.....	97
9.2	Leitungsanästhesie.....	101
9.3	Parese.....	104
9.4	LD ₅₀	106

Selbständigkeitserklärung

Ehrenwörtliche Erklärung

Lebenslauf

Danksagung

Abkürzungsverzeichnis

ACD	Advanced Chemistry Development
DAC	Deutscher Arzneimittelcodex
EC	effektive Konzentration
Fomo-Base	Fomocain-Base
Fomo-Cyc	Fomocain-Cyclodextrin
Fomo-HCl	Fomocain-Hydrochlorid
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KM	Körpermasse
IgP	log partition (n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient)
MG	Molekulargewicht
m/v	Masse/Volumen
n. b.	nicht bestimmt
OIG	obere Intervallgrenze des 95%-Konfidenzintervalls
O/W	Öl/Wasser-Emulsion
PG	Propylenglycol
s.c.	subcutan
UIG	untere Intervallgrenze des 95%-Konfidenzintervalls
USP	United States Pharmacopeia
v/v	Volumen/Volumen
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentralnervensystem

1 Zusammenfassung

Es ist bis heute nicht gelungen, eine lokalanästhetisch wirksame Substanz zu finden, die bei ausreichender Wirkstärke nur geringe bzw. keine toxischen Nebenwirkungen aufweist. Die Wirkung der Lokalanästhetika beruht auf der reversiblen Blockierung von Na^+ -Kanälen in den Membranen sensibler Nerven. Trotz der guten Eigenschaften der bisher auf dem Arzneimittelmarkt etablierten Lokalanästhetika ist es, besonders im Hinblick auf die Minimierung unerwünschter Wirkungen, sinnvoll, an der Entwicklung neuer Wirkstoffe weiter zu forschen.

In der vorliegenden Arbeit wurden 17 neue Derivate des Lokalanästhetikums Fomocain auf ihre Eignung zur Oberflächen- und Leitungsanästhesie sowie auf ihre toxischen Wirkungen an weiblichen Wistar-Ratten getestet. Weiterhin wurde der Einfluss der galenischen Zubereitung der Muttersubstanz Fomocain auf die Wirkung und die Toxizität bestimmt. Auch sollte geklärt werden, wie die Wirksamkeit und Toxizität einiger Fomocainderivate durch die Lösungsvermittler 0,5 % Tylose und 50 % Propylenglycol (PG) beeinflusst werden.

Die gute Eignung des Fomocain als Oberflächenanästhetikum, ebenso die geringe Toxizität sowie die gute Gewebeverträglichkeit, konnten durch unsere Untersuchungen bestätigt werden. Die günstigste Relation zwischen Wirkung und Toxizität bei Betrachtung von vier verschiedenen Fomocainzubereitungen besaß das Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Im Vergleich 1%-iger Lösungen zeigte es die stärksten lokalanästhetischen Effekte an der Cornea und am N. ischiadicus der Ratte. Die LD_{50} nach i.p. Applikation des Fomo-HCl lag zwar im mittleren Bereich (0,35 g/kg KM), es traten jedoch im Gegensatz zur Fomocain-Base (pH 5) keine Paresen des N. ischiadicus auf. Die Fomocain-Base (pH 7) war nur sehr schwach wirksam und ist damit, trotz ihrer geringen Toxizität (0,92 g/kg KM), als Lokalanästhetikum ungeeignet. Eine mit Fomo-HCl vergleichbare Wirkstärke und Toxizität wurde für Fomocain in einer Cyclodextrin-Einschlussverbindung ermittelt.

Von den C-Alkylmorpholinderivaten des Fomocain mit unverzweigten Seitenketten zeigten die Substanzen mit den längsten Substituenten, OW 7 (C_4 in 2-Position) und OW 13 (C_3 in 3-Position), signifikant stärkere oberflächenanästhetische Wirkungen als die Referenzsubstanz Fomo-HCl.

OW 7 zeichnete sich außerdem durch eine geringere Toxizität als Fomo-HCl aus. Im Hinblick auf einen klinischen Einsatz könnten weiterführende Untersuchungen dieser beiden Substanzen interessant sein. Die übrigen Derivate OW 1, OW 3, OW 5, OW 9 und OW 11 waren im Vergleich zu Fomo-HCl ähnlich stark an der Cornea wirksam und ebenso toxisch.

Vom Morpholinderivat Oe 100 (C₅-Zwischenkette) benötigte man geringere Konzentrationen als von Fomo-HCl, um eine gleiche Anästhesiedauer an der Cornea hervorzurufen. Die anderen Morpholinderivate OW 15 und OZ 9 waren nicht stärker oberflächenanästhetisch wirksam als die Referenzsubstanz. Die Substanz OZ 9 ist weniger toxisch, die beiden anderen Substanzen OW 15 und Oe 100 besitzen eine mit Fomo-HCl vergleichbare Toxizität. Ein klinischer Einsatz der Substanz Oe 100 könnte nach weiterer Testung infrage kommen.

Die Thiofomocainderivate Oe 2000 und Oe 4000 (beides Morpholine), sowie Oe 2500 und Oe 4500 (beides Diethanolamine) waren als Oberflächenanästhetika stärker wirksam als Fomo-HCl. Die übrigen Thiofomocaine Oe 5555, Oe 3000 und Oe 3500 sind hinsichtlich ihrer oberflächenanästhetischen Wirkung mit Fomo-HCl vergleichbar oder wirken schwächer. Die Substanz OZ 5555 ist geringfügig schwächer toxisch, während die anderen Thiofomocaine mit Morpholinstruktur ähnliche LD₅₀-Werte aufweisen wie Fomo-HCl. Die Thiofomocaine mit Diethanolaminstruktur zeigten hingegen stärkere toxische Effekte.

Als Leitungsanästhetikum am N. ischiadicus der Ratte war keines der Morpholinderivate bzw. der Thiofomocaine besser geeignet als Fomo-HCl.

Der Einfluss der Lösungsvermittler 0,5 % Tylose und 50 % PG wurde bestimmt. Es konnte nicht endgültig geklärt werden, welches der beiden Lösungsvermittler als pharmazeutischer Hilfsstoff zur Herstellung von Lokalanästhetika-Zubereitungen besser geeignet ist. Mehrheitlich, vor allem in den Versuchen zur Oberflächenanästhesie, konnte Tylose die Wirkung einiger Fomocainderivate begünstigen. In einzelnen Fällen waren aber auch in PG gelöste Derivate stärker wirksam. Der überwiegende Teil der Substanzen zeigte, unabhängig davon, ob Tylose oder PG als Lösungsvermittler verwendet wurde, ähnliche Wirkungen an der Cornea bzw. am N. ischiadicus der Ratte sowie ähnlich starke toxische Effekte.

2 Einleitung

2.1 Schmerz

Schmerz wird laut WHO definiert als ein unangenehmes Sinnes- und Gefühlserlebnis, das mit einer aktuellen oder potentiellen Gewebeschädigung verknüpft ist oder mit dem Begriff einer solchen Schädigung beschrieben wird. Schmerz ist demnach nicht nur eine reine Sinnesempfindung, sondern meist zugleich ein unlustbetontes Gefühlserlebnis, dass unter Umständen auch ohne tatsächliche Gewebeschädigung auftreten kann. Der Schmerz kann in zwei Qualitäten unterteilt werden, welche entsprechend ihrem Entstehungsort unterschieden werden. So lässt sich der somatische Schmerz, bestehend aus dem Oberflächenschmerz der Haut und dem Tiefenschmerz der Muskeln, Gelenke, Knochen sowie des Bindegewebes, vom viszeralen Schmerz der Eingeweide abgrenzen. Nach der Dauer des Schmerzes unterscheidet man akute und chronische Schmerzen. Chronische Schmerzen können auch psychische Ursachen haben und zu einem eigenen Krankheitsbild werden (Schaible und Schmidt 2000).

Nach der Spezifitätstheorie des Schmerzes ist dieser eine eigenständige Sinnesmodalität, deren neuronaler Apparat nozizeptives System genannt wird. Die für Schmerz spezifischen Sinnesrezeptoren (Nozizeptoren) haben eine so hohe Erregungsschwelle, dass sie nur durch gewebsschädigende oder -bedrohende Reize (Noxen) aktiviert werden. Sie sind im ganzen Körper in unterschiedlicher Dichte verteilt, es gibt aber auch Organe ohne Schmerzrezeptoren, z. B. das Gehirn. Die Nozizeptoren besitzen nichtkorpuskuläre Nervenendigungen und sind polymodal, d. h., sie reagieren auf verschiedene Reizqualitäten, z. B. auf mechanische, thermische und chemische Reize (Schaible und Schmidt 2000).

Nach Generation eines Aktionspotentials im Nozizeptor wird die Erregung zum ZNS weitergeleitet. Dies geschieht über afferente Ad- und C-Fasern (Strichartz 1993). Im Rahmen der Schmerzverarbeitung kommt es bereits auf Rückenmarksebene zu Flucht- und Schutzreflexen (z. B. Wegziehreflex des Beines bei Reizung der Pfote; siehe Kap. 4.4.3 - Versuch zur Leitungsanästhesie). Im Hinterhorn des Rückenmarks erfolgt eine

synaptische Erregungsübertragung auf Projektionsneurone, deren Axone nach einer weiteren Umschaltung im Thalamus zum somatosensorischen Kortex aufsteigen. Der Thalamus und die Großhirnrinde sind für die bewusste Schmerzempfindung und Lokalisation zuständig. Eine emotionale Schmerzverarbeitung findet über Verbindungen mit dem limbischen System und dem Frontalhirn statt, die eine Bewertung des Schmerzes als negativ empfundenes Erlebnis ermöglichen (Illes und Allgaier 2005). Das vegetative Nervensystem reagiert auf einen Schmerzreiz mit Anstieg des Blutdruckes, der Herz- und Atemfrequenz sowie einer Mydriasis (Dudel 1997, Schaible und Schmidt 2000).

Die Analgesie ist definiert als die Aufhebung der Schmerzempfindung durch eine Läsion des Nerven oder dessen medikamentöse Blockierung (Thiele 1982). Die Möglichkeiten einer Schmerztherapie sind vielfältig. Als Pharmaka werden häufig Opioidanalgetika und Nicht-Opioidanalgetika eingesetzt (Illes und Allgaier 2005). Narkotika versetzen den Patienten in eine Bewusstlosigkeit. Dadurch wird die zentrale Schmerzverarbeitung im Gehirn verhindert, der Patient nimmt den Schmerzreiz nicht wahr (Ensinger 2005). Eine weitere Möglichkeit der Therapie von Schmerzen ist die Gabe von Psychopharmaka (Antidepressiva), da Schmerzempfindungen häufig psychisch bedingt sind. Die Anwendung psychotherapeutischer Maßnahmen dient meist dazu, chronische Schmerzen besser zu ertragen. Physikalische Verfahren, z. B. die Applikation von Wärme oder Kälte, Ruhigstellen, Bewegungstherapie, Massage, Akupunktur etc. sind ebenfalls in der Lage, Schmerzen zu lindern. Ein chirurgischer Eingriff zur Beseitigung von Schmerzen, im Sinne der Durchtrennung eines Nerven oder Nervenstranges, bleibt solchen Fällen vorbehalten, bei denen sämtliche andere Therapiestrategien erfolglos waren (Schaible und Schmidt 2000).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich ausschließlich mit der Lokalanästhesie als Möglichkeit der Beseitigung von Schmerzen. Sie bewirkt den Verlust der Wahrnehmung einer Körperregion ohne Bewusstseinsverlust und ohne den Verlust von Vitalfunktionen (Catterall und Mackie 1998).

2.2 Geschichte der Lokalanästhesie

Die Menschheit sucht seit jeher nach Möglichkeiten zur Linderung von Schmerzen. Anfänglich versuchte man durch Kompression, d. h. Abschnürung der Gefäß- und Nervenstränge, Schmerzen zu reduzieren. Der französische Chirurg Ambroise Paré (1510 - 1590) nutzte diese Methode zur Amputation von Gliedmaßen nach Kriegsverletzungen. Eine Weiterentwicklung der Gefäßabschnürung erfolgte ausgangs des 18. Jahrhunderts mittels der von James Moore (1762 - 1860) konstruierten Druckpelotte, womit er vor einer Unterschenkelabtrennung Hüft- und Oberschenkelnerv zusammengepresst hatte. Als Erklärung für die Schmerzausschaltung wurde später die Unterbindung der Blutzufuhr herausgefunden. Andere Wundärzte konnten jedoch mit Moores Druckvorrichtung nur eine mangelhafte Schmerzlinderung erreichen, was zur allgemeinen Ablehnung aller Kompressionsmethoden führte (Karger-Decker 1984).

Mitte des 17. Jahrhunderts schrieb der dänische Anatom Thomas Bartholinus (1661 - 1680) über die „Medizinische Verwendung des Schnees“. Inspiriert wurde Bartholinus von seinem italienischen Lehrer Marco Aurelio Severino (1580 - 1656), der bei seinen wundärztlichen Eingriffen mit einer Mischung aus Schnee und Eisstückchen die Schmerzempfindung reduzierte. Der englische Operateur John Hunter (1728 - 1793) griff diese Anregung um 1785 auf und konnte im Tierexperiment eine lokale Betäubung durch Kälte erzeugen. Des Weiteren nutzten französische Armeeärzte im russischen Winterfeldzug Napoleons den dort reichlich vorhandenen Schnee zur Schmerzlinderung bei der Wundversorgung. 1866 führte der Londoner Chirurg Benjamin Ward Richardson (1828 - 1896) das Prinzip der Verdunstungskälte zur örtlichen Betäubung in seiner Klinik ein. Er konstruierte hierzu einen Äthersprudler, mit dessen Hilfe sich die Haut auf bis zu -15 °C abkühlen ließ. Für kurz andauernde Eingriffe stellte dieses Verfahren einen echten Fortschritt dar. Heute wird die Kälteanästhesie im Rahmen der Kryochirurgie genutzt (Karger-Decker 1984).

Ein weit größerer Fortschritt gelang dem Wiener Augenarzt Carl Koller (1857 - 1944) mit der Anwendung von Cocain zur Lokalanästhesie. Koller war aus überlieferten Schriftquellen bekannt, dass bereits Medizinmänner

der Inka den Saft gekauter Cocablätter ihren Patienten zur Schmerzbetäubung auf Operationswunden träufelten und damit sogar Schädeltrepanationen unter lokaler Schmerzstillung vornahmen. Ungehört blieb zunächst die Vermutung des italienischen Physiologen Paolo Montegazza (1831 - 1910), nachdem er 1859 durch Cocasaft eine Krampfstillung des Magens beobachtete und das auf eine verminderte Schleimhautempfindlichkeit aufgrund der Cocainwirkung zurückführte. Erst als im Jahre 1860 von Albert Niemann (1834 - 1921) in Göttingen der Wirkstoff Cocain aus Blättern der Cocapflanze isoliert werden konnte, war die Voraussetzung zur weiteren Untersuchung geschaffen. 1880 beschrieb Basili von Anrep (1852 - 1927) Agitation, Exzitation, Erhöhung von Atemfrequenz und Puls, Mydriasis, Hyperperistaltik, Blutdruckanstieg und verminderte Sekretion als Nebenwirkungen von Cocain. Carl Koller wurde durch diese Erkenntnisse aufmerksam und begann mit Cocain zu experimentieren. Er wies zunächst im Tierversuch und im Selbstversuch die lokalanästhetische Wirkung des Cocains nach. Schließlich führte er 1884 eine Kataraktoperation an einem Patienten, dessen Hornhaut er zuvor mit fünfprozentiger Cocainlösung benetzte, schmerzfrei durch. Noch im selben Jahr wurde durch Koller die Lokalanästhesie mit Cocain in die Ophthalmologie eingeführt (Liljestrand 1967, Karger-Decker 1984, Vandam 1987).

William Steward Halsted (1852 - 1922) gelang als erstem die Blockade eines ganzen Nervenstranges. 1885 spritzte er zu diesem Zweck eine Cocainlösung an den Mandibularnerv eines von Zahnschmerzen geplagten Patienten und ermöglichte mit dieser ersten Leitungsanästhesie eine völlig schmerzfreie Zahnextraktion. Maximilian Oberst (1849 - 1925) erkannte 1889 bei der Leitungsanästhesie an Fingern und Zehen, das sich mit einer durch Gliedabbindung geschaffenen künstlichen Blutleere die betäubende Wirkung des Cocains verlängern ließ. Bei seiner Arbeit als Chirurg in Leipzig entdeckte Heinrich Braun (1862 - 1934) 1895 die gefäßverengende Wirkung einer aus Schafsnebenieren gewonnenen Substanz, genannt Adrenalin. Durch das vasokonstriktorisches Hormon Adrenalin bewirkte Braun eine Abnahme der systemischen Toxizität des Cocains, die auf dem Abtransport in den Kreislauf beruhte. Die beträchtliche Toxizität des Cocains, verbunden mit einer ausgeprägten Suchtgefahr und unerwünschten Nebenwirkungen im

ZNS, veranlassten die Suche nach neuen, besseren Lokalanästhetika. Mit der Herstellung von Procain (Novocain®) durch Alfred Einhorn (1856 - 1917), patentiert am 16. April 1905, stand nun das erste synthetische und wesentlich ungiftigere Lokalanästhetikum zur Verfügung (Karger-Decker 1984).

Das 1928 von Otto Eisleb synthetisierte Tetracain, für viele Jahre die führende Substanz für Spinalanästhesien, hatte eine höhere lokalanästhetische Potenz aber auch eine höhere Toxizität als Procain. 1943 gelang dem Schweden Nils Lofgren die Synthese des ersten Amid-Lokalanästhetikums, dem Lidocain. Lofgren erkannte auch ein gemeinsames Strukturprinzip (Kap. 2.3), das für die meisten lokalanästhetisch wirksamen Substanzen gilt (Biscoping und Bachmann-Mennenga 2000).

Oelschläger synthetisierte 1957 den basischen Ether Fomocain, welcher seit 1967 als Oberflächenanästhetikum eingesetzt wird (Oelschläger 1959, 1982).

2.3 Struktureigenschaften und Wirkmechanismus der Lokalanästhetika

Die verschiedenen Pharmaka, die lokalanästhetische Wirkungen hervorrufen, können anhand ihres Wirkmechanismus in vier Gruppen unterteilt werden:

1. Die Nervengifte Tetrodotoxin und Saxitoxin blockieren von der Zellaußenseite die Öffnung von Na^+ -Kanälen und verhindern somit die Ausbildung von Aktionspotentialen. Als Folge dessen treten schwere Lähmungserscheinungen auf (Catterall und Mackie 1998).
2. Bestimmte apolare Pharmaka unterschiedlicher Struktur, z. B. Benzocain, lagern sich reversibel in die Lipidphase von Nervenzellmembranen ein. Dadurch kommt es zu einer Membranexpansion, die eine Öffnung der Na^+ -Kanäle verhindert (Strichartz 1976).
3. Die lipophilen Alkaloide Veratridin, Batrachotoxin oder Aconitidin bewirken nach Eindringen in den Na^+ -Kanal und Bindung an einen hydrophoben Rezeptor im Inneren eine Konformationsänderung des Kanals. Dadurch kommt es zur permanenten Öffnung (Kohlhardt 1989, Catterall 1992).

4. Die therapeutisch angewendeten basisch-dissoziierbaren Lokalanästhetika blockieren vom Zellinneren her spannungsgesteuerte Na^+ -Kanäle und verhindern somit die Ausbildung von Aktionspotentialen (Biel 2005).

Im Folgenden werden ausschließlich Lokalanästhetika der letztgenannten Gruppe beschrieben.

Löfgren (1946) erkannte, dass sich die meisten lokalanästhetisch wirksamen Substanzen dieser Gruppe auf ein gemeinsames Bauprinzip zurückführen lassen (Abb. 1). Sie bestehen aus einem lipophilen, meist aromatischen Rest, der über eine Zwischenkette mit einem hydrophilen Rest, meist eine sekundäre oder tertiäre Aminogruppe, verbunden ist.

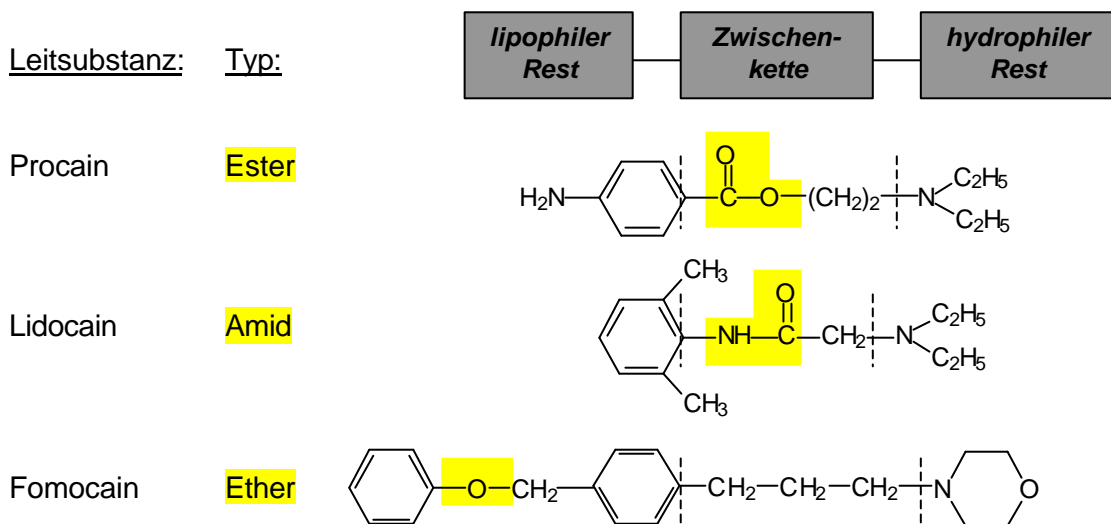


Abbildung 1: Grundstruktur der Lokalanästhetika nach Löfgren am Beispiel des Esters Procain, des Amids Lidocain und des Ethers Fomocain.

Schaumann (1938) erkannte bereits die wesentlichen Eigenschaften, die ein optimales Lokalanästhetikum aufweisen muss:

1. Die Substanz muss im Verhältnis zu ihrer örtlich anästhesierenden Wirkung weniger toxisch als Cocain sein.
2. Die Substanz darf keine oder nur geringfügige Gewebeschädigungen verursachen.
3. Die Substanz muss wasserlöslich sein. Ihre Lösungen sollten dem physiologischen pH-Wert nahe kommen.
4. Die Substanz soll sich auf einfache Weise sterilisieren lassen.
5. Die Substanz muss sich mit Adrenalin kombinieren lassen.

Lokalanästhetika hemmen reversibel und örtlich begrenzt die Erregungsfortleitung am peripheren Nerv, welcher sich aus myelinisierten und nicht-myelinisierten Fasern zusammensetzt. Die Wirkung der Lokalanästhetika ist am ausgeprägtesten an den dünnen, schmerzleitenden C- und Ad-Fasern (Abb. 2). Mit Vergrößerung des Faserdurchmessers nimmt die Empfindlichkeit gegenüber Lokalanästhetika ab. Somit wird zuerst die Fortleitung von Schmerzreizen blockiert. Später, in höheren Dosen, kommt es nacheinander zu Ausfällen der Temperaturempfindung, der Berührungsempfindung, der Druckwahrnehmung und der Willkürmotorik, infolge der Blockade von Aα- Aβ und Aγ-Fasern (Mutschler 2001, Biel 2005). Koelzer und Wehr (1958a) beobachteten, dass diese Reihenfolge bei der Leitungsanästhesie des Nervus ischiadicus der Ratte nicht in jedem Fall zutreffend ist. Auch Catterall und Mackie (1998) berichten über eine primär auftretende Parese. Sie führen dies darauf zurück, dass die dickeren motorischen Fasern zwar langsamer inhibiert werden, aber auf Grund ihrer peripheren Lage in gemischten Nerven eher mit dem applizierten Lokalanästhetikum in Kontakt kommen als die weiter zentral gelegenen sensiblen Nerven.

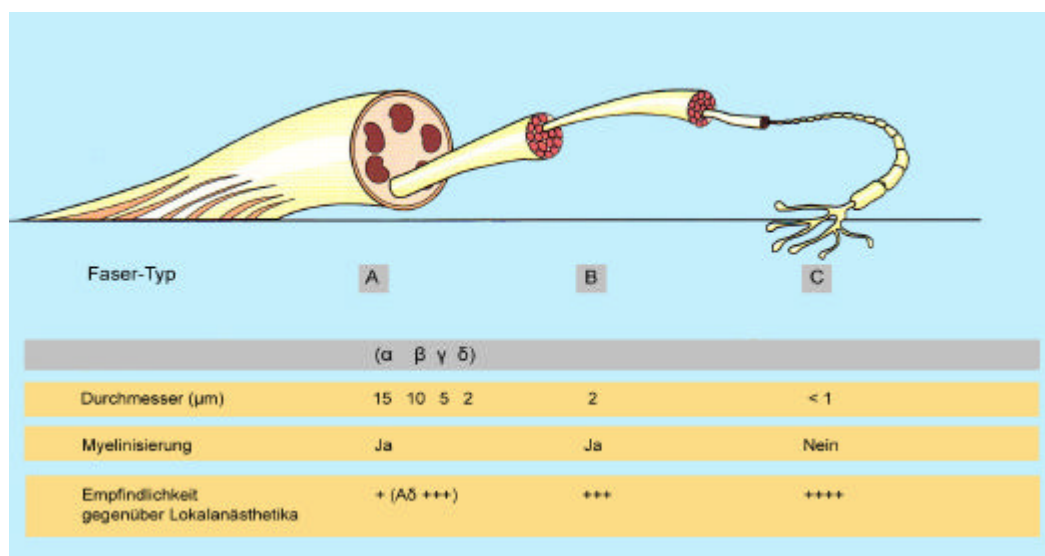


Abbildung 2: Charakteristika von Nervenfasern (Mutschler 2001).

Der eigentliche Wirkort der Lokalanästhetika ist der spannungsabhängige Na⁺-Kanal. An den nicht-myelinisierten C-Fasern sind die Na⁺-Kanäle gleichmäßig über die Membran verteilt. An den myelinisierten Fasern befinden sich die Na⁺-Kanäle nur an den Ranvier'schen Schnürringen (Zimmermann 2003).

Der Na^+ -Kanal ist ein heterotrimeres Protein und besteht aus einer α -, einer β_1 - und einer β_2 -Untereinheit (Abb. 3 und 4). Die α -Einheiten beinhalten vier homologe Domänen (I - IV), die jeweils sechs transmembranäre Segmente aufweisen. Die spezifische Bindungsstelle für die Lokalanästhetika befindet sich am S6-Segment der Domäne IV. S4 ist protoniert. Durch ihre geladene Struktur reagiert diese Domäne auf Potentialschwankungen der Membran und bewirkt durch Änderungen der räumlichen Struktur innerhalb des Kanalproteins ein Öffnen des Kanals. S5 und S6 sind durch eine Schleife verbunden und begrenzen die Pore nach außen. Die Schleife zwischen S3 und S4 inaktiviert den Na^+ -Kanal. Eine Phosphorylierung dieser Strukturelemente bewirkt eine Verlangsamung der Inaktivierung (Catterall 1992, Catterall 2000, Catterall und Mackie 1998, Catterall et al. 2005).

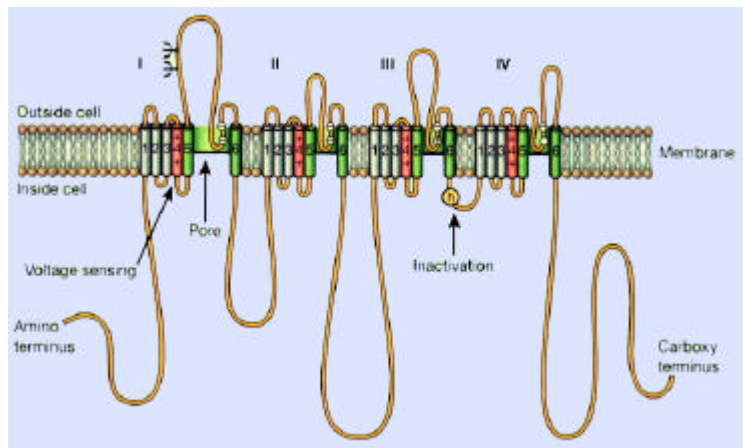


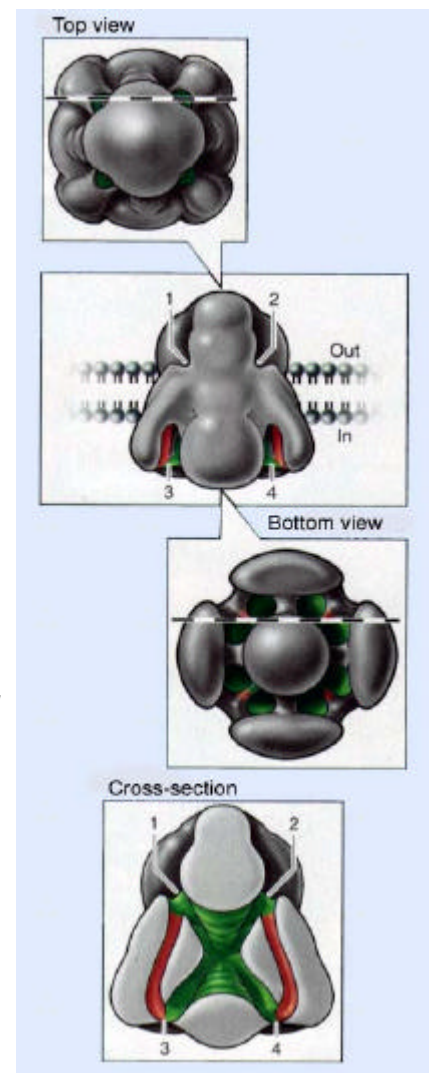
Abbildung 3 (oben):

Der spannungsgesteuerte Na^+ -Kanal.

Zweidimensionale Darstellung der α -Untereinheit mit ihren vier homologen Domänen I - IV, die jeweils sechs transmembranäre Segmente aufweisen. Der Spannungssensor S4 ist rot, die Domänen S5 und S6 sind grün hervorgehoben. Die Schleife zwischen S3 und S4 (mit einem gelben h gekennzeichnet) bildet das Inaktivierungstor (aus Catterall 2001).

Abbildung 4 (rechts):

Dreidimensionale Darstellung des spannungsgesteuerten Na^+ -Kanals. Grün eingefärbt ist der zentrale, ionenleitende Kanal. Rot hervorgehoben ist die Pore, die das Segment S4 enthält. Die Nummern 1 - 4 sollen die Orientierung zwischen der Aufsicht und dem Querschnitt erleichtern. Die gestrichelten Linien zeigen die Position des im Querschnitt dargestellten unteren Bildes (aus Catterall 2001).



Lokalanästhetika können auch mit anderen Membranproteinen interagieren. Insbesondere können sie K^+ -Kanäle blockieren, jedoch sind hierfür höhere Konzentrationen erforderlich (Strichartz und Ritchie 1987, Butterworth und Strichartz 1990).

Basisch-dissoziierbare Lokalanästhetika gelangen an ihren Wirkort nur von der Innenseite der Zellmembran (Narahashi und Frazier 1971, Strichartz und Ritchie 1987). Daher muss das Lokalanästhetikum zunächst undissoziiert die Plasmamembran der Nervenzelle passieren. Mit dem Rezeptor kann nur die protonierte Form interagieren (Ritchie und Greengard, 1966). Das Lokalanästhetikum bindet spezifisch an das Bindungsareal S6 der Domäne IV des Na^+ -Kanals. Damit wird der Kanal blockiert, er kann nicht mehr geöffnet werden. Der schnelle Na^+ -Einstrom in die Zelle, der die Generation und die Fortleitung eines Aktionspotentials auslöst, wird verhindert (Strichartz und Ritchie 1987).

Die Lokalanästhetika sind schwache Basen, deren pK_a -Wert (Gleichung 1) zwischen 7,8 und 9 liegt. Sie sind nur als saure Salze, z. B. als Hydrochloride, wasserlöslich. Die Injektionslösung weist demnach einen pH-Wert zwischen 4 und 6 auf. Nach Injektion in das Gewebe (pH-Wert 7,4) ändert sich der Dissoziationsgrad. In Abhängigkeit vom pK_a -Wert beträgt der Anteil der freien Base 3 - 20 %. Im entzündeten Gewebe ($pH < 6$) liegen nur noch minimale Anteile als Base vor, so dass wegen mangelnder Penetration keine ausreichende Anästhesie mehr zustande kommt (Biel 2005).

Für basische Pharmaka gilt:

$$pK_a = pH - \log \frac{\text{Salz}}{\text{Säure}} \quad (1)$$

$$\begin{array}{ll} pK_a & pK_a\text{-Wert der Substanz} \\ pH & pH\text{-Wert der Lösung} \end{array}$$

Neben dem pK_a -Wert charakterisieren weitere Parameter die physiko-chemischen Eigenschaften der Lokalanästhetika:

Der Trübungs-pH-Wert ist der pH-Wert, bei dessen Überschreitung eine gelöste Substanz auszufallen beginnt (Koelzer und Wehr 1958 a, b).

Der Verteilungskoeffizient lgP (n-Octanol/Wasser) ist ein Maß für die Lipophilie eines Stoffes (Schatton 1977). Ein Mindestmaß an Lipophilie ist notwendig, um die Nervmembran zu durchdringen und den Wirkort zu erreichen. Eine zu hohe Lipophilie führt dagegen zu einer Anreicherung der

Substanz in der Lipidmembran. Daraus resultiert, dass der Wirkort nicht erreicht werden kann und die lokalanästhetische Wirksamkeit herabgesetzt oder aufgehoben ist. Dieses Phänomen wird als Cut-off-Effekt bezeichnet (Büchi et al. 1967).

Weiterhin hat das Ausmaß der Plasmaproteinbindung Einfluss auf die Wirksamkeit der Lokalanästhetika. Nur der freie, nicht proteingebundene Anteil ist pharmakologisch aktiv und kann am Na^+ -Kanal wirken (Biel 2005).

Auch die Molekülgröße ist für die Dauer der Wirkung relevant. Kleinere Moleküle können sich offenbar schneller vom Rezeptor am Na^+ -Kanal lösen, werden vom Blut in den großen Kreislauf abtransportiert und wirken damit kürzer (Butterworth und Strichartz 1990).

Das Diffusionsvermögen nimmt mit zunehmender Molekülgröße ab. Ein Zusammenhang zwischen der lokalanästhetischen Wirksamkeit und dem Ausmaß der Diffusion besteht nach Büchi und Perlia (1962 b, c) aber nicht.

2.4 Anwendungsmöglichkeiten der lokalen Anästhesie

Die Möglichkeiten der Anwendung von Lokalanästhetika zur lokalen Schmerzausschaltung sind vielfältig. Tab. 1 gibt einen Überblick über die gebräuchlichsten Arten der Lokalanästhesie und deren Indikationen sowie häufig verwendete Wirkstoffe.

Tabelle 1: Anwendungsformen von Lokalanästhetika (Biel 2005)

Anwendung	Wirkort	Indikationen	Stoffe	Applikationsformen
Oberflächenanästhesie	Endigungen sensibler Nerven in der Schleimhaut bzw. Haut an Nase, Auge, Mund, Genitalien, etc.	Beseitigung des Schmerz- und Juckreizes, diagnostische Maßnahmen, ophthalmologische Operationen	Tetracain, Lidocin, Benzocain, Fomocain	Lösungen, Suspensionen, Sprays, Salben, Puder, Cremes
Infiltrationsanästhesie	Endigungen der sensiblen Nerven in der Subcutis	Zahnbehandlung, chirurgische Eingriffe	Lidocain, Bupivacain, Articain	Injektionslösungen mit oder ohne Vasokonstriktor

Fortsetzung Tabelle 1:

Anwendung	Wirkort	Indikationen	Stoffe	Applikationsformen
Leitungsanästhesie (nach OBERST)	Gemischte Nerven	gezielte Unterbrechung von Nerven bei Zahnbehandlungen, chirurgischen Eingriffen	Lidocain, Bupivacain, Articain	Injektionslösungen mit oder ohne Vasokonstriktor
Spinalanästhesie	Subarachnoidalraum, Spinalwurzel	geburtshilfliche, gynäkologische, urologische und chirurgische Eingriffe	Lidocain, Bupivacain	Injektionslösungen mit oder ohne Vasokonstriktor
Periduralanästhesie	Periduralraum	geburtshilfliche, gynäkologische, urologische und chirurgische Eingriffe	Lidocain, Bupivacain, Prilocain, Etidocain	Injektionslösungen mit oder ohne Vasokonstriktor
Intravenöse Regionalanästhesie (BIER'scher Block)	Endigungen der sensiblen Nerven im Gewebe	kurze chirurgische Eingriffe an Extremitäten	Lidocain, Prilocain	Injektionslösungen ohne Vasokonstriktor, zuvor Anlegen einer Blutdruckmanschette

2.5 Toxikologie und Nebenwirkungen der Lokalanästhetika

Seit der Entwicklung erster lokoregionärer Anästhesieverfahren hat man sich mit der Toxizität der jeweiligen Stoffe beschäftigt. Mit der früher vielfach praktizierten Anwendung von Cocain häuften sich Berichte über letale Zwischenfälle. Auch wenn heute, mehr als 100 Jahre nach diesen ersten Erfahrungen, Lokalanästhetika weitaus sicherer geworden sind, darf man deren toxisches Potential nicht verkennen (Zink und Graf 2003).

Wie in Tab. 2 dargestellt, können bei der Anwendung lokaler Anästhetika auf verschiedenen Ebenen unerwünschte Effekte hervorgerufen werden. Lebensbedrohliche Zwischenfälle ergeben sich vor allem durch zentralnervöse und kardiovaskuläre Wirkungen. Ursachen hierfür sind die versehentliche intravasale Injektion infolge fehlerhafter Technik, abnorme Resorptionsverhältnisse (z. B. hyperämische Bronchialschleimhaut mit erhöhter Gefäßpermeabilität) oder - in selteneren Fällen - eine relative

Überdosierung bei der Anwendung in gut durchbluteten Regionen. Infolge der genannten Ursachen kommt es zum exzessiven Anstieg der freien Plasmakonzentration des verabreichten Lokalanästhetikums, welche einen substanzspezifischen Grenzwert überschreiten kann. Die ungebundenen Lokalanästhetikamoleküle diffundieren in die Blutbahn und können toxische Reaktionen auslösen (Büch und Rummel 2004, Zink und Graf 2003). Besondere Vorsicht ist geboten bei der Anwendung von Lokalanästhetika im letzten Schwangerschaftsdrittel. Hier kann es durch vermehrte Flüssigkeitseinlagerungen und einer häufig damit verbundenen Hypoproteinämie zur Abnahme der Bindungskapazität der Plasmaproteine kommen. Dies führt zu einer erhöhten Konzentration des freien Lokalanästhetikums und somit zu einer verstärkten Toxizität (Moller und Covino 1988).

Tabelle 2: Überblick über die Toxizität von Lokalanästhetika (Zink und Graf 2003)

Formen der Toxizität von Lokalanästhetika	
Systemische Toxizität	Zentralnervöse Effekte (z. B. Krämpfe, Bewusstlosigkeit, Unruhe, nervöse Ängstlichkeit, Bewegungs- und Sprechdrang, Schwindel, Sehstörungen, Tinnitus, Nausea) Kardiovaskuläre Effekte (z. B. negative Chrono- und Inotropie, Herzstillstand)
Lokale Toxizität	Neurotoxizität (z. B. Taubheitsgefühl, persistierende neuropathische Schmerzen) Myotoxizität (z. B. lokale Schäden der Skelettmuskulatur, Nekrosen)
Hämatologische Effekte	Methämoglobinbildung (z. B. durch den Prilocainmetaboliten o-Toluidin)
Allergische Reaktionen	Aminoester (-metabolite) >> Aminoamide

Es liegt also eine Parallelität zwischen der in die systemische Zirkulation gelangten Wirkstoffkonzentration und der Gefahr unerwünschter Effekte vor (Catterall und Mackie 1998). Es muss mit konzentrationsabhängigen Störungen sämtlicher erregbarer Zellsysteme gerechnet werden. Besonders bei niedermolekularen Stoffen ist ein Übertritt durch die Blut-Hirnschranke

und somit eine zentrale Wirkung möglich. Anzeichen einer beginnenden Störung des ZNS sind Nausea, Erbrechen, Rededrang, Euphorie, Angst, Unruhe, Schwindel, starke Erregung und Verlust der Orientierung. Nach vorausgehenden Muskelzuckungen treten klonische Krämpfe auf, denen Koma und zentrale Atemlähmung folgen können. Erregung und Krämpfe sind die Folgen einer Blockade der Natriumkanäle inhibitorischer Neurone, die zuerst blockiert werden (Covino 1987, Biel 2005). Kardiotoxische Effekte betreffen das Myokard und das Reizleitungssystem. Als Folgen können extreme Bradykardien, ventrikuläre Arrhythmien oder sogar therapierefraktäre Herzstillstände auftreten (Zink und Graf 2003).

Die systemische Toxizität kann durch die Zugabe von Vasokonstringentien wie Noradrenalin, Adrenalin oder Analoga des Hypophysenhinterlappenhormons Adiuretin verringert werden. Somit wird der zumeist gefäßdilatierenden Wirkung von synthetischen Lokalanästhetika entgegengewirkt. Infolge dessen kommt es sowohl zur verlangsamten Resorption in den großen Kreislauf mit verlängerter Wirkungsdauer als auch zur lokalen Minderdurchblutung als gewünschtem Begleiteffekt bei operativen Eingriffen. Die Anwendung von Vasokonstriktoren ist jedoch nicht in jedem Fall möglich und auch nicht frei von Risiken. Zum einen besteht durch den Adrenalinzusatz das Risiko, dass sich die Gefäße der Skelettmuskulatur erweitern und damit die Resorption des Lokalanästhetikums nach intramuskulärer Gabe begünstigt und die systemische Toxizität gesteigert wird (Catteral und Mackie 1998, Jacob 2005). Zum anderen können durch das in das Blut gelangte Adrenalin kardiale Symptome ausgelöst werden (Biel 2005). Die Dosierung von Vasokonstringentien sollte so gering wie möglich erfolgen (Grenzdosis für Adrenalin/Noradrenalin bei einer Lokalanästhesie: 0,25 mg), um keine Wundheilungsstörungen oder gar Nekrosen durch eine länger anhaltende Ischämie zu provozieren (Büch und Rummel 2004). Bei operativen Eingriffen an Akren muss aufgrund der Gefahr einer ischämisch bedingten Nekrose im Bereich der Endstrombahn auf vasokonstriktische Zusätze verzichtet werden (Mutschler 2001).

Teilweise werden systemische Nebenwirkungen als allergische Reaktionen verkannt. Eine richtige Diagnose ist für die Therapie entscheidend. Die

allergische Symptomatik kann sich sowohl in harmlosen urtikariellen Exanthemen als auch als Asthma-Anfall oder als anaphylaktischer Schock äußern. Allergien treten am häufigsten bei der Anwendung von Lokalanästhetika vom Estertyp auf (Tab. 3). Bei Säureamidpräparaten kommt es in der Regel nur aufgrund der enthaltenen Konservierungsstoffe (z. B. Methylparaben) oder Antioxidantien (z. B. Sulfite) zu Allergien (Covino 1987, Catterall und Mackie 1998, Mutschler 2001, Büch und Rummel 2004).

Tabelle 3: Häufigkeit allergischer Hautreaktionen bei Patienten mit und ohne Allergieprädisposition, denen verschiedene Lokalanästhetika intradermal injiziert wurden (Covino 1987); n. b. = nicht bestimmt

Stoff	Keine Allergiepatienten (n=60)		Allergiepatienten (n=11)	
		Angabe in %		Angabe in %
NaCl	0	0	0	0
Aminoester				
Procain	20	33	8	73
Chloroprocain	11	18	8	73
Tetracain	25	42	8	73
Aminoamide				
Lidocain	0	0	0	0
Mepivacain	0	0	0	0
Prilocain	0	0	0	0
Konservierungsstoff				
Methylparaben	8	13	n. b.	n. b.

Von der systemischen Toxizität lassen sich lokale myo- und neurotoxische Effekte abgrenzen, deren Pathomechanismus noch weitgehend ungeklärt ist. Die Inzidenz peripherer Nervenläsionen ist relativ gering und schwankt je nach Autor zwischen 0 % und 5 % (Selander 1999). Symptome wie Taubheitsgefühl oder sogar persistierende neuropathische Schmerzen sind konzentrations- und dosisabhängig. Eventuelle Schädigungen der Skelettmuskulatur sind reversibel (Covino 1987).

Die Anwendung von Lokalanästhetika am Auge kann ebenfalls toxische Auswirkungen haben. Bisher hat man noch kein Oberflächenanästhetikum gefunden, welches bei wiederholtem Gebrauch keine Hornhautläsion verursacht. Diese Epithelschädigung entsteht durch eine ödematöse Zellauflockerung und geht mit einer punktförmigen bis diffusen Trübung der

Hornhautoberfläche einher. Es kommt zu Erosionen, Quellungen und Ulzera der Hornhaut, die eine schlechte Heilungstendenz aufweisen (Meyer 1965, Dick und Schäfer 2003).

Bei Leitungsanästhesien besteht die Möglichkeit einer mechanischen Nervenschädigung durch die Injektion selbst oder als Folge intraneuraler Blutungen. Ebenso konnten Gefäßspasmen mit Thrombenbildung innerhalb der den Nerven versorgenden Gefäße beobachtet werden (Haas 1993).

2.6 Prüfung von Lokalanästhetika

Um mehrere Lokalanästhetika miteinander vergleichen zu können ist es erforderlich, die drei charakteristischen Grundeigenschaften (Oberflächenanästhesie, Leitungsanästhesie und Toxizität) tierexperimentell zu ermitteln. Für die Prüfmethode im Tierexperiment gelten bestimmte Anforderungen:

1. Sie sollen präzise, reproduzierbare Werte mit möglichst geringer Streuung liefern,
2. funktionelle Beziehungen zwischen angewendeter Substanzmenge und erzielter Wirkung erkennen lassen,
3. Ergebnisse liefern, die mathematisch ausgewertet und mit Ergebnissen von anderen Autoren verglichen werden können und
4. auf die klinische Praxis der Humanmedizin übertragbar sein.

Die unterschiedlichen Arten der Anwendung, also Leitungs- und Oberflächenanästhesie, müssen separat betrachtet werden. Rückschlüsse auf die Wirkstärke von der einen auf die andere Anwendungsform sind nicht möglich (Herr 1958, Koelzer und Wehr 1958 a).

2.7 Fomocain

2.7.1 Pharmakologische und toxikologische Eigenschaften

Aus medizinischer Sicht werden drei wesentliche Anforderungen an ein Lokalanästhetikum gestellt: rasche, hinreichend starke und möglichst lang anhaltende Wirkung, geringe akute Toxizität und gute Gewebeverträglichkeit. Unter diesem Aspekt wurde das Ziel verfolgt, neue Substanzen zu finden. Oelschläger entwickelte das 1967 als Therapeutikum eingeführte 4-[3-(4-Phenoxymethylphenyl)-propyl]-morpholin (Fomocain). Das sowohl als Hydrochlorid (seit 1979), als auch als Base (seit 1991) im Deutschen

Arzneimittel-Codex (DAC) monographierte Lokalanästhetikum gehört zur Gruppe der basischen Ether (Oelschläger et al. 1968, Oelschläger 2000). Wie in Abb. 5 erkennbar besteht das Fomocainmolekül aus einem hydrophoben Anteil, der über eine Propylkette mit einem dissoziierbaren Morpholinring verbunden ist. Der hydrophobe Rest besteht aus einem Phenylring, der über eine Etherbindung mit einem Methylphenylring verbunden ist.

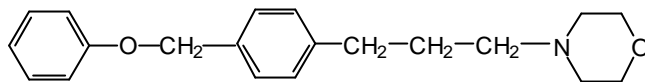


Abbildung 5: Strukturformel von Fomocain

Mit einer Summenformel von $C_{20}H_{25}O_2N$ weist die Substanz ein Molekulargewicht von 311,41 auf. Die farblose kristalline Fomocainbase hat ihren Schmelzpunkt bei 56 - 57 °C und zeigt in Wasser ein schlechtes Löslichkeitsverhalten, wogegen sie in lipophilem Milieu gut gelöst werden kann. Das Hydrochlorid löst sich gut in Wasser und schmilzt bei 171 - 173 °C (Arzneistoff-Profile, Oelschläger 1977).

Die Metabolisierung des Fomocain erfolgt in der Leber. Eine 95%-ige Eiweißbindung, die vorwiegend an Serumalbumin erfolgt, konnte nachgewiesen werden. Die lokalanästhetische Wirkung setzt sowohl die protonierte hydrophile als auch die nicht-protonierte lipophile Form voraus. In lipophiler Form diffundiert Fomocain durch die Nervenmembran und vergrößert deren Volumen, wodurch Natriumkanäle unspezifisch verschlossen werden. Die spezifische Blockade durch Affinität der hydrophilen Anteile mit Bindungsstellen im Inneren der Natriumkanäle stellt jedoch die wesentliche Wirkung dar (Oelschläger 2000).

Schon 1958 erkannten Nieschulz und Mitarbeiter die gute oberflächenanästhetische Eigenschaft von Fomocain. Auch beim tierexperimentellen Vergleich von über 70 neu synthetisierten Substanzen auf der Grundlage des Benzylethers durch Oelschläger et al. (1968) konnte das Fomocain eindeutig überzeugen. Es zeichnete sich durch eine sehr gute oberflächenanästhetische Wirkung sowie hervorragende Verträglichkeit aus (Oelschläger et al. 1968). Prüfungen am Kaninchen- und Mausauge ergaben

eine nur gering schwächere Oberflächenwirkung des Fomocain im Vergleich zu Tetracain (Reuter et al. 1975). Dagegen hat Fomocain bei der Leitungsanästhesie eine zwei- bis vierfach stärkere Wirkung als Procain (Nieschulz et al. 1958). Im Ames-Test konnte man mit 90%-iger Sicherheit nachweisen, dass Fomocain weder kanzerogen noch mutagen wirkt (Oelschläger 2000). Die Verbindung zeigt außerdem spasmolytische, sowie fungistatische und bakteriostatische Wirkungen gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien (Oelschläger et al. 1968, Oelschläger und Rothley 1979, Knothe et al. 1980).

Fomocain ist relativ untoxisch. Tetracain ist nach intravenöser Gabe siebzehnmal und Lidocain viermal stärker toxisch als Fomocain (Tab. 4). Die niedrige Toxizität lässt sich durch den Morpholinring erklären, der in die Struktur als hydrophiler Rest eingeführt wurde (Oelschläger 2000).

Tabelle 4: Toxizität ausgewählter Lokalanästhetika, welche intravenös (i.v.) oder intraperitoneal (i.p.) injiziert wurden (Oelschläger 2000)

	LD₅₀ Maus i.v. [mg/kg KM]	LD₅₀ Maus i.p. [mg/kg KM]
Procain	56	167
Tetracain	10,5	53
Lidocain	44	120
Fomocain	175	230

Durch die Entwicklung neuer Lokalanästhetika wollte man die Nebenwirkungen der bisher gebräuchlichen Lokalanästhetika vom Amid- oder Estertyp ausschalten. Neben systemischen Begleitwirkungen werden besonders allergische Reaktionen als Komplikationen beschrieben. Bei der Anwendung von Fomocain wurden bisher keine Allergien beobachtet (Oelschläger 1977). Bereits 1958 konnten Nieschulz et al. eine gute antihistaminerge sowie eine leichte antiphlogistische Wirkung nachweisen. Tests an Meerschweinchen und Probanden ergaben weder während der Behandlungszeit noch in der Abschlussuntersuchung entzündliche Veränderungen der Haut (Oelschläger et al. 1968).

Reuter et al. (1975) konnten eine dem Chinidin qualitativ vergleichbare antiarrhythmische Aktivität des Fomocain am Herzmuskel nachweisen, da

sowohl eine verlangsamte Leitungsgeschwindigkeit am Ganztier als auch eine verlängerte funktionelle Refraktärzeit am isolierten Organ hervorgerufen wurde. Die zusätzlich positiv inotrope und damit blutdrucksteigernde Wirkung spricht für eine größere therapeutische Breite des Fomocain. Da jedoch Warnzeichen einer toxischen Wirkung ausbleiben, ergibt sich eine gleichzeitige Gefahr der Überdosierung mit letalen Folgen.

Aufgrund seiner starken oberflächenanästhetischen Wirkung, seiner geringen Toxizität und dem Ausbleiben allergischer Reaktionen findet der Arzneistoff vorrangig Verwendung in dermatologischen Präparaten (Erbocain-Salbe, Erbocain-Creme). Mit Cremes, die Fomocain in Kombination mit Prednisolon enthalten, können Verbrennungen und Strahlenreaktionen an Haut und Schleimhaut effektiv therapiert werden. Des Weiteren benutzt man das in Erbroproct[®]-Präparaten enthaltene Fomocain zur Behandlung von Analekzemen, Fistelleiden, inneren und äußeren Hämorrhoiden sowie nach Operationen im Enddarmbereich (Harrison et al. 1982, Oelschläger 1977). Auch das Brand- und Wundgel Herit[®] enthält Fomocain als lokalanästhesierende Komponente (Oelschläger et al. 1982a). Fomocain erzielt hierbei einen deutlichen antihistaminergen Effekt, welcher durch die Blockierung intradermal lokalisierter Histamin-Rezeptoren hervorgerufen wird (Oelschläger und Rothley 1979, Oelschläger et al. 1982a, b).

Zusammenfassend kann man feststellen, dass das Fomocain ein hochwirksames Oberflächenanästhetikum ist, welches, ohne sensibilisierend zu wirken, eine geringe Toxizität aufweist. Es wird gegenwärtig untersucht, ob weitere Einsatzmöglichkeiten des Fomocain sinnvoll sind. Das Spektrum könnte sich auf die Verwendung von Fomocain als Migräne-Therapeutikum, Antiarrhythmikum oder Neuraltherapeutikum erweitern lassen (Oelschläger 2000).

2.7.2 Ergebnisse bisheriger tierexperimenteller Prüfungen von Fomocainderivaten

Vom Fomocain ausgehend wurden in den letzten Jahren zahlreiche Derivate synthetisiert und tierexperimentell erprobt. Das Ziel war es, Stoffe zu finden, die im Hinblick auf Wirkung und Toxizität den bisher angewandten Lokalanästhetika überlegen sind.

Tschritter und Kämena (2000) untersuchten die Racemate (\pm)O/G3 und (\pm)O/G5 sowie deren Enantiomere. Hierbei handelt es sich um chirale Fomocainderivate, die erstmals von Glassl (1995) synthetisiert wurden. Aufgrund geringerer lokalanästhetischer Wirksamkeit und höherer Gewebeerirritation im Vergleich zu Fomocain ergab sich jedoch keine klinische Relevanz. Weiterhin untersuchte man im Rahmen dieser Arbeit die Toxizität einiger Fomocain-Metabolite und kam zu der Schlussfolgerung, dass Fomocain durch seine Metabolisierung inaktiviert und entgiftet wird. Die Kenntnisse über den Metabolismus bauen auf frühere Versuche mit ^{14}C -markiertem Fomocain an Ratten und Beagle-Hunden auf (Oelschläger und Ewald 1986).

Um Fomocainderivate mit noch besseren Eigenschaften zu finden, untersuchte Loy (2003) sieben neue Fomocainabkömmlinge, davon vier Diethanolamin- und drei Morpholinderivate. Die sehr gute oberflächenanästhetische Eigenschaft von Fomocain, die wiederholt bestätigt werden konnte, wurde nur von OE 1000, dem Morpholinderivat mit der längsten Alkylkette, übertroffen. Irreversible Langzeitbeeinträchtigungen, hervorgerufen durch diese Substanz, lassen jedoch eine klinische Anwendung nicht zu. Bis auf die Substanz OE 9000, dem Diethanolaminderivat mit der längsten Alkylkette, konnten auch die anderen Stoffe nicht überzeugen. OE 9000 zeigte eine gute leitungsanästhetische Wirkung bei einer dem Fomocain vergleichbaren Oberflächenanästhesie und Toxizität. Diese Substanz ist möglicherweise für die systemische Anwendung und ggf. als Ersatz für Fomocain als Oberflächenanästhetikum geeignet.

Ausgehend von diesen Untersuchungen, in denen man zeigte, dass Fomocain und viele seiner Derivate noch weiterer pharmakologischer Charakterisierung bedürfen, wurden fünf neue C-Alkylmorpholinderivate und fünf 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin-Einschlussverbindungen synthetisiert. Bei der Untersuchung dieser Substanzen durch Fleck et al. (2004) ergab sich kein therapeutischer Vorteil gegenüber der Ausgangssubstanz Fomocain. Lediglich eine längere leitungsanästhetische Dauer von OW 11, einem C-Alkylmorpholinderivat, könnte klinisch relevant sein. Durch die Synthese der Fomocain-Einschlussverbindungen in Form von Cyclodextrinen wurde eine geringfügig verbesserte lokalanästhetische Wirkung bei niedrigerer

Toxizität erreicht. Des Weiteren war es dadurch möglich, erstmals eine hochkonzentrierte, stabile und parenteral applizierbare Lösung von Fomocain herzustellen. Bisher erlaubten die physiko-chemischen Eigenschaften von Fomocain nur eine äußerliche Anwendung in Salben und Gelen (Wennek-Klose 2003).

3 Ziele der Arbeit

Ausgehend vom sehr gut verträglichen und stark wirksamen Oberflächenanästhetikum Fomocain wurde seit vielen Jahren daran gearbeitet, Derivate zu finden, die den Anforderungen an ein optimales Lokalanästhetikum, insbesondere bei Risikopatienten, noch besser gerecht werden. Wir untersuchten zwölf neue Fomocainabkömmlinge, die uns von Herrn Prof. Dr. Dres. h.c. H. Oelschläger, Institut für Pharmazie der FSU Jena, zur Verfügung gestellt worden sind. Durch unsere Arbeit sollte an der Ratte die lokalanästhetische Wirksamkeit und die Toxizität dieser Substanzen charakterisiert und Struktur-Wirkungs-Beziehungen herausgefunden werden. Es wurden folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. Welcher Zusammenhang besteht zwischen galenischen Zubereitungsformen der Muttersubstanz Fomocain (Base, Hydrochlorid, Cyclodextrin- Einschlussverbindung) und Wirkung bzw. Toxizität?
2. Welchen Einfluss hat die Einfügung von Seitenketten am Morpholinring des Fomocain?
3. Was bewirkt die Substitution des Sauerstoffatoms der Etherbindung durch ein Schwefelatom (Thiofomocaine)?
4. Wie beeinflusst das Lösungsmittel (Propylenglycol, Tylose) die lokalanästhetische Wirkung und die Toxizität von Fomocain?

4 Material und Methoden

4.1 Testsubstanzen

Gegenstand unserer Arbeit war die tierexperimentelle Untersuchung neuer Fomocain-Abkömmlinge. Hierfür standen uns zwölf Derivate zur Verfügung, die im Institut für Pharmazie der FSU Jena von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Dres. h.c. H. Oelschläger entwickelt und synthetisiert wurden. Es kann eine Einteilung in chirale Morpolinderivate und Thiofomocaine vorgenommen werden (siehe Tab. 5).

Die chiralen Morpolinderivate OW 1, OW 3, OW 5, und OW 7 weisen an der 2-Position ihres Morpholinringes eine Seitenkette auf, die aus einer unverzweigten C₁- bis C₄-Alkylkette besteht. Die Substanzen OW 9, OW 11 und OW 13 besitzen unverzweigte Seitenketten der Länge einer Methyl-, Ethyl- und Propylgruppe in 3-Stellung am Morpholinring.

Die Substanz OW 15 trägt in 3-Stellung einen Isopropyl-Rest. Die beiden Substanzen Oe 100 und OZ 9 weisen keine Substituenten am Morpholinring auf. Oe 100 unterscheidet sich von Fomocain durch eine längere Zwischenkette (C₅). OZ 9 ist ein in 4-Stellung des Exoringes trifluormethyliertes Fomocain. Die Substanzen OW 15, Oe 100 und OZ 9 werden im Folgenden als Gruppe zusammengefasst mit der Bezeichnung „andere Morpolinderivate“.

Bei den Thiofomocainen handelt es sich um Substanzen, deren Etherfunktion durch eine Thioetherfunktion ersetzt worden ist. Der Thioether Oe 2000 ist, mit Ausnahme dieser Veränderung, identisch mit Fomocain. Bei den Substanzen Oe 5555 und Oe 3000 ist die Zwischenkette um eine bzw. zwei Methylen-Gruppen verkürzt, bei Oe 4000 ist die Zwischenkette hingegen um eine verlängert. Die vier Substanzen Oe 5555, Oe 3000, Oe 2000 und Oe 4000, deren gemeinsames Strukturmerkmal ein Morpholinring ist, sind entsprechend ihrer von C₁ bis C₄ ansteigenden Länge der Zwischenkette angeordnet.

Ersetzt man die Morpholinkomponente durch eine Diethanolamingruppe, werden die Verbindungen Oe 3500, Oe 2500 und Oe 4500 erhalten, die sich untereinander nur durch verschiedene Längen ihrer Zwischenketten unterscheiden.

Die folgenden Substanzen wurden von uns untersucht:

OW 7, OW 13, OW 15, Oe 100, OZ 9, Oe 5555, Oe 3000, Oe 2000, Oe 4000, Oe 3500, Oe 2500, Oe 4500.

Die Ergebnisse der Substanzen OW 1, OW 3, OW 5, OW 9, OW 11 und Fomocain-Cyclodextrin entnahmen wir aus Fleck et al. (2004). Die Resultate für die Fomocain-Base (pH 5) stammen aus den Untersuchungen von Loy (2003). Wir verwendeten die Versuchsergebnisse zum Vergleich mit den von uns untersuchten Substanzen und um Zusammenhänge zwischen der chemischen Struktur und der Wirksamkeit und Toxizität herstellen zu können. Die Strukturformeln aller getesteter Substanzen und Vergleichssubstanzen, sowie deren chemische Bezeichnungen, Summenformeln, n-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (lgP) und Molekulargewichte (MG) sind in Tab. 5 aufgeführt.

4.2 Referenzsubstanz Fomocain

Fomocain diente als Vergleichssubstanz gegenüber den getesteten Fomocainderivaten und wurde aus dem Institut für Pharmazie der FSU Jena von Prof. Dr. Dres. h.c. H. Oelschläger bezogen. Die Substanz wurde als Fomocain-Base in kristalliner Form zur Verfügung gestellt und vor den Tests durch Zugabe von Salzsäure als Hydrochlorid gelöst sowie anschließend auf einen pH-Wert von 5,0 eingestellt. Um eine lokale Gewebeazidose zu vermeiden, sollte dieser Wert nicht unterschritten werden (Seeling 1996).

Die Herstellung von Fomocain erfolgte über eine 3-Stufen-Synthese aus 1-Chlor-3-phenylpropan (Oelschläger 1959). Fomocain besitzt die folgenden physikochemischen Parameter:

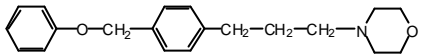
1. relatives Molekulargewicht: 311,4
2. pK_a -Wert: 7,1 (v. Bruchhausen et al. 1994)
3. Trübungs-pH-Wert als Hydrochlorid bei $5 \cdot 10^{-4}$ mmol/l: 6,88 (Seeling 1996)
4. Wasserlöslichkeit der Fomocain-Base: 0,028 mmol/l (persönliche Angaben von Herrn Apotheker T. Dahse)
5. Eiweißbindung an Humanserum: 98,5 % (Nachev 1982)

Tabelle 5: Chemische Bezeichnungen, Summenformeln, Molekulargewichte (MG), *n*-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (lgP) und Strukturformeln für die Referenzsubstanz Fomocain sowie für ausgewählte Morpholinderivate und für verschiedene Thiofomocaine mit Morpholinstruktur bzw. mit Diethanolaminstruktur. ⁽¹⁾ aus Wange (2006); ⁽²⁾ Berechnung mit ACD/ChemSketch 5.11)

Substanz	Chemische Bezeichnung (nach IUPAC)	Summenformel	MG	lgP	Strukturformel
----------	---------------------------------------	--------------	----	-----	----------------

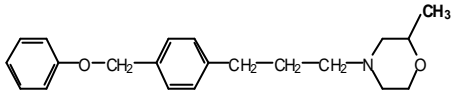
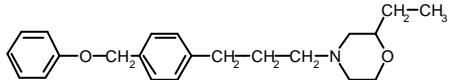
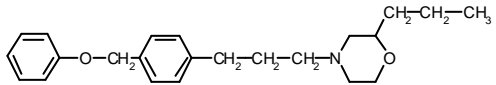
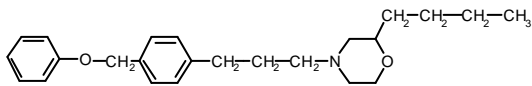
1 Morpholinderivate

1.1 Referenzsubstanz

Fomocain	4-[3-(4-Phenoxymethylphenyl)-propyl]morpholin	C ₂₀ H ₂₅ O ₂ N	311,41	3,85 ⁽¹⁾	
-----------------	---	--	--------	---------------------	---

1.2 chirale Morpholinderivate

1.2.1 C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten in 2-Position

OW 1	2-Methyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	C ₂₁ H ₂₇ O ₂ N	325,43	3,94 ⁽¹⁾	
OW 3	2-Ethyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	C ₂₂ H ₂₉ O ₂ N	339,46	4,12 ⁽¹⁾	
OW 5	2-Propyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	C ₂₃ H ₃₁ O ₂ N	353,48	4,47 ⁽¹⁾	
OW 7	2-Butyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	C ₂₄ H ₃₃ O ₂ N	367,51	4,80 ⁽¹⁾	

1.2.2 C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten in 3-Position

OW 9	3-Methyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	$C_{21}H_{27}O_2N$	325,43	3,81 ⁽¹⁾	
OW 11	3-Ethyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	$C_{22}H_{29}O_2N$	339,46	4,00 ⁽¹⁾	
OW 13	3-Propyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	$C_{23}H_{31}O_2N$	353,48	4,28 ⁽¹⁾	

1.3 andere Morpholinderivate

OW 15	3-Isopropyl-4-[3-(4-Phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	$C_{23}H_{32}O_2N$	354,49	4,20 ⁽¹⁾	
Oe 100	4-[5-(4-Phenoxymethyl)-phenylpentyl]morpholin	$C_{22}H_{29}NO_2$	339,46	4,76 ⁽²⁾	
OZ 9	4-[3-(4-Trifluormethyl)-phenoxymethyl)-phenylpropyl]morpholin	$C_{21}H_{24}F_3NO_2$	379,42	4,84 ⁽²⁾	

2 Thiofomocaine

2.1 mit Morpholinstruktur

Oe 5555	4-[(4-Phenylthiomethylphenyl)-methyl]morpholin	$C_{18}H_{21}ONS$	299,37	2,78 ⁽²⁾	
Oe 3000	4-[2-(4-Phenylthiomethylphenyl)-ethyl]morpholin	$C_{19}H_{23}O NS$	313,34	3,20 ⁽²⁾	
Oe 2000	4-[3-(4-Phenylthiomethylphenyl)-propyl]morpholin	$C_{20}H_{25}O NS$	327,42	3,87 ⁽²⁾	
Oe 4000	4-[4-(4-Phenylthiomethylphenyl)-butyl]morpholin	$C_{21}H_{27}O NS$	339,43	4,33 ⁽²⁾	

2.2 mit Diethanolaminstruktur

Oe 3500	2,2'-[2-(4-Phenylthiomethylphenyl)-ethylimino]diethanol	$C_{19}H_{25}O_2NS$	331,46	2,46 ⁽²⁾	
Oe 2500	2,2'-[3-(4-Phenylthiomethylphenyl)-propylimino]diethanol	$C_{20}H_{27}O_2NS$	345,48	3,05 ⁽²⁾	
Oe 4500	2,2'-[4-(4-Phenylthiomethylphenyl)-butylimino]diethanol	$C_{21}H_{29}O_2NS$	359,51	3,57 ⁽²⁾	

4.3 Lösungsvermittler

4.3.1 Tylose

Tylose® (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) ist ein Methylcellulose-Präparat, das durch Einwirkung von Methylchlorid auf alkalysierte Cellulose hergestellt wird. Es kann eine weitere Veretherung mit geringen Mengen Ethylenoxid vorgenommen werden. Als Folge dessen enthält Tylose keine ionogenen, reaktionsfähigen Gruppen und kann keine Salze bilden. Tylose ist physiologisch unbedenklich. Die LD₅₀ nach oraler Gabe an der Ratte beträgt > 2000 mg/kg KM. Tylose wirkt nicht reizend am Kaninchenauge und kann zur Herstellung von pharmazeutischen und kosmetischen Präparaten verwendet werden. Tylose ist gut in kaltem Wasser löslich. 1%-ige wässrige Lösungen weisen einen neutralen pH-Wert auf. Reine Tylose in Pulverform ist geruch- und geschmacklos und weiß bis schwach gelblich gefärbt. Lösungen sind oberhalb eines pH-Wertes von 2 stabil (Fiedler 1996, Sicherheitsdatenblatt Tylose).

Für unsere Versuche verwendeten wir als Lösungsvermittler für die Fomocainderivate 0,5%-ige Tylose (Tylose-Wasser-Gemisch 0,5/99,5 (m/v)).

4.3.2 Propylenglycol

1,2-Propylenglycol (Fluka, Buchs, Schweiz) ist eine klare, etwas dickflüssige, fast geruchlose Flüssigkeit. Es ist mit Wasser mischbar und wird für zahlreiche Wirkstoffe als Lösungsvermittler verwendet (Fiedler 1996). Das von uns eingesetzte 1,2-Propylenglycol entspricht den Anforderungen der USP XIV. Die Toxikologie von Propylenglycol ist ausgiebig untersucht worden (Tab. 6). Die Wirkungen auf das ZNS sind erheblich geringer als die von Ethanol.

Tabelle 6: Angabe der LD₅₀ des Propylenglycols nach Applikation an der Ratte (Anschel 1965⁽¹⁾, Fiedler 1996⁽²⁾)

Applikationsform	LD ₅₀ [g/kg KM]
intramuskulär	14,7 ⁽¹⁾ ; 13 ⁽²⁾
intravenös	1,68 ⁽¹⁾ ; 7 ⁽²⁾
oral	21 ⁽²⁾
intraperitoneal	13 ⁽²⁾
subcutan	22 ⁽²⁾

Akut zeigt Propylenglycol bei Kaninchen keinen Einfluss auf die Zahl der Leukozyten und Erythrozyten, das Erythrozytenvolumen und den Hämoglobin-Wert. Die chronische Gabe von Propylenglycol führt zu keinen Veränderungen des Blutbildes, ebenso konnte keine Erhöhung der Mortalität und der Tumorfrequenz festgestellt werden (Gaunt et al. 1972). Hoenig und Werner (1980) beobachteten nach chronischer Gabe von Propylenglycol keine Veränderung der Plasmalipide. Der Gesamtcholesteringehalt der Leber war jedoch zur Kontrollgruppe leicht, aber signifikant erhöht.

In der vorliegenden Arbeit verwendeten wir als Lösungsvermittler für die Fomocainderivate 50%-iges Propylenglycol (Propylenglycol-Wasser-Gemisch 50/50 (v/v)).

4.4 Tierexperimentelle Prüfmethoden

4.4.1 Versuchstiere

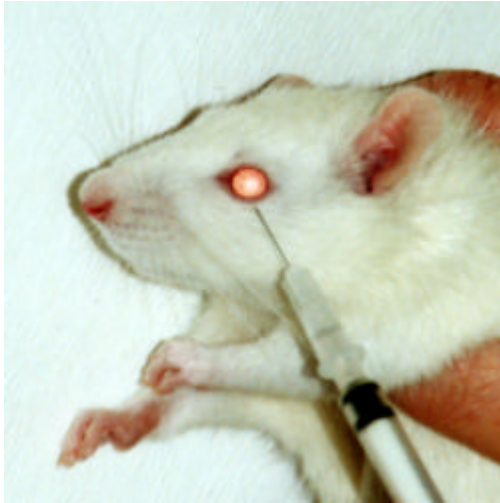
Alle Untersuchungen wurden an 50 - 60 Tage alten weiblichen Wistar-Ratten (Han:WIST) des Auszuchtstammes des Institutes für Pharmakologie und Toxikologie der FSU Jena durchgeführt. Das Körpergewicht lag zwischen 160 g und 230 g. Die Zucht und Haltung der Ratten erfolgte unter standardisierten Bedingungen. Die Raumtemperatur betrug 22 ± 2 °C und die relative Luftfeuchtigkeit 55 ± 10 %. Ein Hell-Dunkel-Rhythmus (12/12 Stunden) wurde eingehalten und es fand ein konstanter Luftwechsel in den Räumen statt (EG-Norm). Bei einem Muttertier wurden jeweils sechs neugeborene Ratten belassen. Am 30. Tag wurden die Tiere von ihrer Mutter getrennt und anschließend je sechs Tiere in einem Makrolonkäfig (38,5 x 59,5 x 19 cm, Typ IV, Ehret GmbH, Berlin, Deutschland) mit Weichholzgranulat (Altromin GmbH, Lage, Deutschland) als Einstreu gehalten. Als Nahrung wurden Futterpellets (Haltungsdiät 1326 Altromin, Altromin GmbH, Lage, Deutschland) sowie Leitungswasser verabreicht. Am Ende der Versuche wurden die Ratten in Ethernarkose durch Dekapitation getötet. Die Genehmigung des Thüringer Landesverwaltungsamtes für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz Abt. 2, Gesundheitlicher Verbraucherschutz und Veterinärwesen, für dieses Versuchsvorhaben lag vor.

4.4.2 Bestimmung der Oberflächenanästhesie

Die Cornea wird sensibel innerviert durch die Nn. ciliares longi des N. ophthalmicus. Nach Eintritt in die Hornhaut verlieren die Nervenfasern ihre Myelinscheide. Unter der Bowman-Membran bilden die Nerven einen Plexus. Nach dem Durchtritt durch die Lamina limitans anterior im Epithel verlieren sie ihre Schwann-Hülle (Drenckhahn und Rager 2004). Eine Oberflächenanästhesie wird in der klinischen Praxis typischerweise durch Auftropfen des Lokalanästhetikums erreicht (Schäfer 2001).

Diese Art der Applikation wurde für die vorliegenden Untersuchungen übernommen. Es wurden ausschließlich Ratten verwendet, deren Cornealreflex (reflektorischer Lidschluss des Auges nach vorsichtiger Berührung der Cornea mittels einer Parodontalsonde, deren Durchmesser 0,5 mm betrug) vor Versuchsbeginn eindeutig auslösbar war. Die Beleuchtung des Laborraumes wurde so gewählt, dass Blendeffekte ausgeschlossen werden konnten. Um die Substanzen am Tier gut applizieren zu können und die Einwirkungsdauer von einer Minute bei allen Tieren konstant zu halten, wurden die Versuchstiere in eine leichte Ethernarkose versetzt. Die Narkose dauerte 1 bis 2 Minuten und wurde so flach gehalten, dass eine Beatmung der Tiere nicht notwendig war. Dem Versuchstier wurden 0,05 ml der Lösung auf die Cornea appliziert (Microlance®-Kanüle: 0,3 x 13 mm, Becton-Dickinson, Heidelberg, Deutschland) und für genau eine Minute belassen (Abb. 6). Während dieser Zeit wurde das Auge des Tieres durch den Untersucher mit Daumen und Zeigefinger offen gehalten. Danach wurde das Auge mit 1 ml einer 30 °C warmen, 0,9%-igen NaCl-Lösung gespült (Abb. 7).

Im Anschluss daran wurde der Cornealreflex, unter Vermeidung der Berührung der Wimpern, sofort an beiden Augen geprüft. Zur Testung des Reflexes wurde die Cornea jeweils leicht mit der Parodontalsonde berührt, so dass eine gerade sichtbare Eindellung zu sehen war (Abb. 8). Anschließend wurde der Lidschlussreflex alle 2 Minuten geprüft. Innerhalb von 4 Sekunden wurde die Cornea zehnmal gereizt. Erfolgte dabei in = 3 Fällen ein Lidschluss, so wurde dies als Ende der Anästhesie gewertet.



*Abbildung 6:
Die Wirkstoffzubereitung (0,05 ml) wird mit einer Spritze auf die Cornea des Versuchstieres aufgetropft.*



*Abbildung 7:
Nach einer Minute wird das Auge mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung gespült.*



*Abbildung 8:
Zum Prüfen der Auslösbarkeit des Cornealreflexes wird die Cornea mit einer Parodontalsonde berührt.*

Zusätzlich zur Untersuchung der Oberflächenanästhesie der Cornea wurde darauf geachtet, ob infolge der Substanzapplikation Hornhauttrübungen, Tränenfluss oder Bindehautrötungen bzw. -entzündungen auftraten.

4.4.3 Bestimmung der Leitungsanästhesie

Die Bestimmung der Leitungsanästhesie erfolgte am Nervus ischiadicus der Ratte (Abb. 9, 10). Eine Applikation am frei liegenden Nerv scheitert, aufgrund fehlender klinischer Übertragbarkeit, aus. Ratten eignen sich besonders als Versuchstiere für diesen Test, weil die Anästhesiedauer der des Menschen relativ nahe kommt. Außerdem reagieren Ratten auf Reize an der Pfote sehr lebhaft, so dass eine eventuelle Lokalanästhesie leicht und

genau feststellbar ist. Es wurden Lösungen der Fomocainderivate in verschiedenen Konzentrationen hergestellt und jeweils an sechs Ratten getestet.

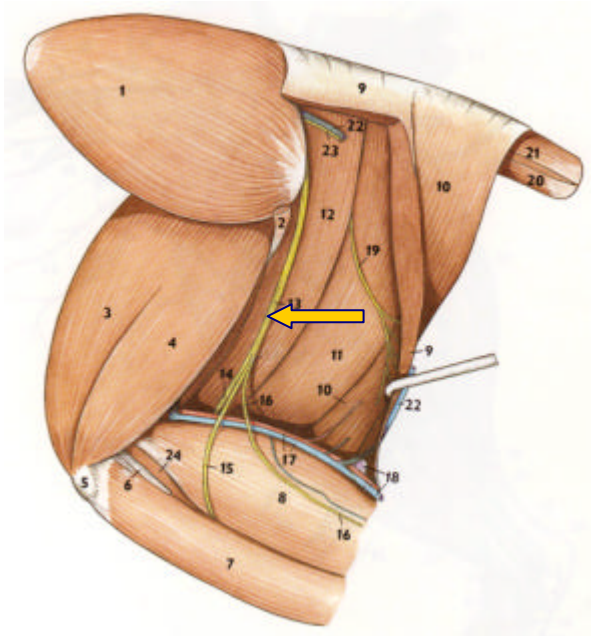


Abbildung 9:
Übersicht über die Anatomie der Becken-
muskulatur der Ratte, Ansicht von lateral. Der N.
ischiadicus ist mit einem Pfeil gekennzeichnet.
(Popesko et al. 1992)

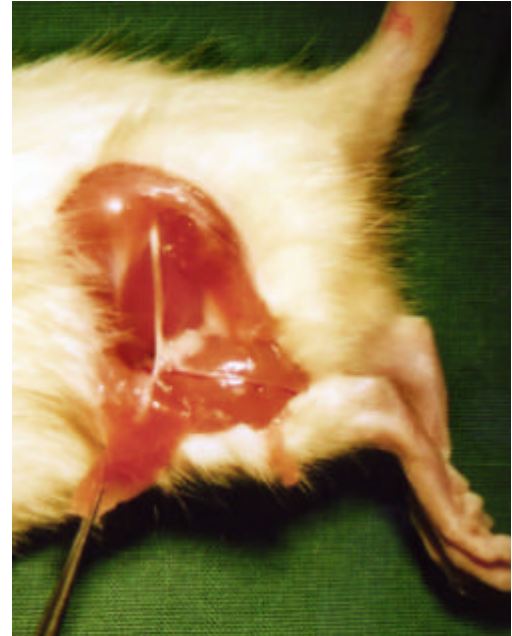
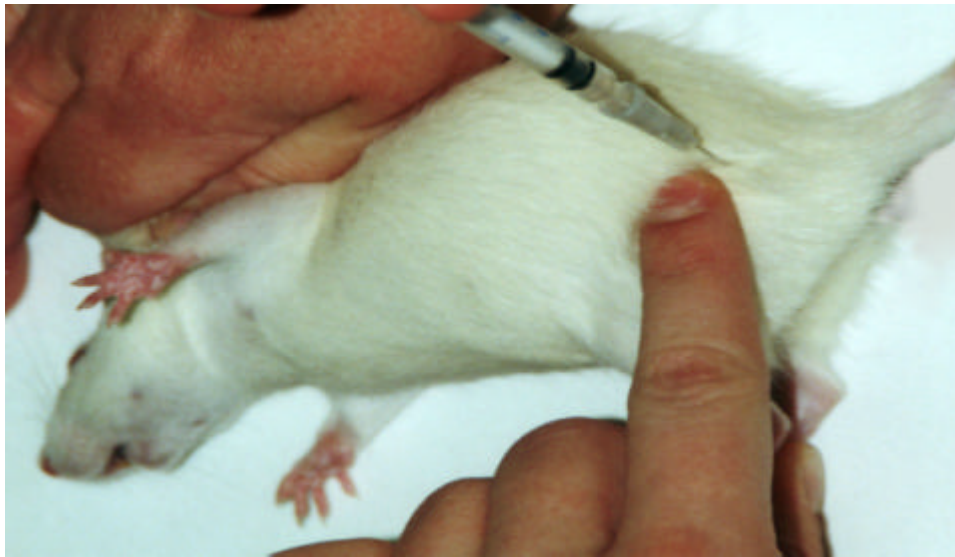


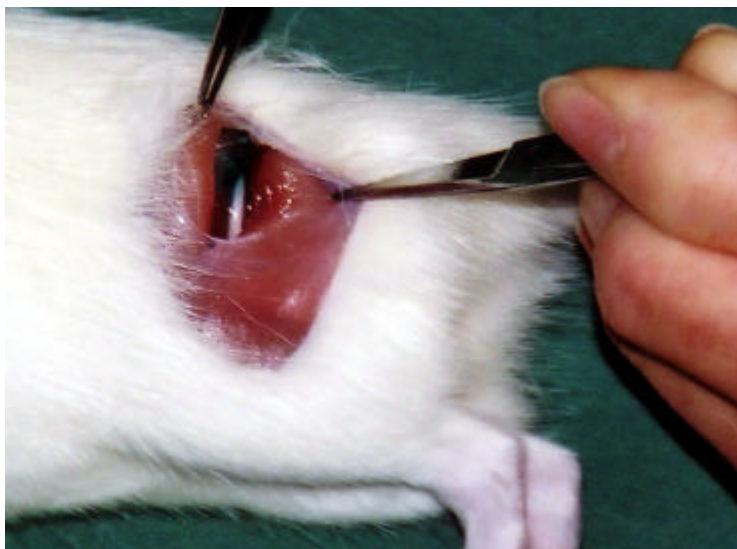
Abbildung 10:
Der N. ischiadicus der Ratte in situ
dargestellt.

Die Injektionstechnik wurde in Anlehnung an Lembeck (1953) sowie Koelzer und Wehr (1958a) durchgeführt. Die Ratte wurde zunächst von einer Hilfsperson mit einer Hand am Rückenfell in Seitenlage gehalten. Mit der anderen Hand wurde das dem Untersucher zugewandte Bein in gestreckter, abduzierter Haltung fixiert. Mit dem linken Zeigefinger tastete der Untersucher den Trochanter major und straffte dabei das Gewebe. Mit der rechten Hand erfolgte die Injektion (Abb. 11). Die Injektionsnadel (Microlance®-Kanüle 0,4 x 19 mm, Becton-Dickinson, Heidelberg, Deutschland) wurde, dicht am Finger entlang, vorgeschoben, bis die Nadelspitze den Knochen berührte. Anschließend wurde die Nadel ca. 1 mm zurückgezogen und dann 0,05 ml der zu testenden Substanz appliziert. Eine Beschädigung des Nerven ist bei dieser Applikationstechnik nicht zu befürchten (Koelzer und Wehr 1958a).

Um standardisierte Bedingungen zu erhalten wurde die Durchführung der Injektionstechnik in Vorversuchen geübt. Hierzu injizierten wir einigen Tieren statt der Wirkstofflösung eine 0,9%-ige NaCl-Lösung gemischt mit grünem Farbstoff (Lissamingrün) im Verhältnis 1:50. Anschließend wurden die Tiere in Ethernarkose dekapitiert und der N. ischiadicus freipräpariert. War die Applikation erfolgreich, konnte man den Nerv von grüner Farbstofflösung umspült sehen (Abb. 12).



*Abbildung 11:
Ausführung der Leitungsanästhesie am linken N. ischiadicus. Das Tier wird von einer Hilfsperson fixiert. Der Untersucher tastet mit dem linken Zeigefinger den Trochanter major. Mit der rechten Hand erfolgt die Injektion der Testsubstanz.*



*Abbildung 12:
Nach Applikation einer Farbstofflösung wurde der N. ischiadicus freipräpariert. Der Nerv ist von Lissamingrün umspült, die Injektion wurde korrekt ausgeführt.*

Wenn die injizierte Testsubstanz eine Wirkung zeigte, kam es kurz darauf zur Anästhesie. Während des Versuches befanden sich die Versuchstiere einzeln in einem durchsichtigen Makrolonkäfig, der oben mit einem Metallgitter abgedeckt war. Dieser Käfig wurde langsam um 180° gedreht, so dass die Ratte schließlich auf dem Gitter saß. Wenn nun die Pfote mit einer stumpfen Sonde gereizt wurde (Abb. 13), kam es bei einem nichtanästhesierten Tier sofort zum Wegziehreflex. Außerdem versuchte das Tier, durch Flucht innerhalb des Käfigs, dem Reiz zu entkommen. War die Pfote anästhesiert, blieb das Tier auch nach mehrmaliger Reizung bewegungslos sitzen. Da die Anästhesie erst nach einer Latenzzeit von ca. 1 bis 5 Minuten einsetzte, wurde post injectionem alle 30 Sekunden geprüft, um den Zeitpunkt des Beginns der Anästhesie festzustellen. Nach eingetretener Anästhesie erfolgte die Prüfung alle 2 Minuten, nach 20 Minuten nur noch alle 5 Minuten. Reagierte das Tier wieder auf die Reize, galt die Anästhesie als beendet.



*Abbildung 13:
Zum Prüfen der Wirkung wird die Pfote mit einer stumpfen Sonde gereizt
(Blick von unten).*

In einigen Fällen trat begleitend zur Lokalanästhesie eine Parese auf (Abb. 14, 15). Als Ausdruck der Parese zeigte das Tier einen hinkenden Gang, zudem hing die Pfote durch die Gitterstäbe und die Zehen standen eng zusammen. Wurde der Käfig um 90° gedreht, glitt die Pfote beim Versuch des Tieres, sich an den Gitterstäben festzukrallen, hindurch. Die entsprechenden Zeiten für die Parese wurden notiert. Als Ende der Parese wurde der Zustand gewertet, in dem die Pfote wieder sicheren Halt an den Gitterstäben fand.



Abbildung 14: (links)
Als Ausdruck einer Parese zeigt sich ein enger Zehenstand.



Abbildung 15: (rechts)
Aufgrund der Parese gleitet die Pfote am Gitter des Käfigs, der um 90° gedreht wurde, ab und hängt schlaff hindurch (Blick von vorn).

4.4.4 Bestimmung der LD₅₀

Um eine Minimierung der Tierzahl für die Toxizitätsbestimmung, gemäß den Vorgaben des Tierschutzgesetzes, zu gewährleisten, wählten wir das Verfahren nach Miller und Tainter (1944) zur Bestimmung der approximativen LD₅₀. Die Applikation der zu testenden Substanz erfolgte an Wistar-Ratten, deren Gewicht jeweils 160 g bis 230 g betrug, durch intraperitoneale Injektion. Eine Testgruppe bestand aus sechs Tieren. Es wurden pro Substanz mindestens drei Dosierungen untersucht, wobei als Obergrenze 60 mg / 100 g KM festgelegt worden sind.

Zunächst versuchten wir durch Tests an einzelnen Tieren, den Dosisbereich zu finden, der für die Bestimmung der approximativen LD₅₀ relevant ist. Erst dann sind drei Dosierungen gewählt wurden, so dass die Letalität möglichst im Bereich zwischen 20 % und 80 % lag.

Die Zeiten des Eintritts toxischer Wirkungen bzw. des Todes wurden festgestellt. Die Reaktionen der Tiere wurden direkt nach Applikation sowie in der ersten Stunde alle 10 Minuten, danach bis 6 Stunden jede volle Stunde und anschließend alle 6 Stunden beobachtet. Bei allen Tieren wurde auf Veränderungen im Verhalten geachtet und diese entsprechend protokolliert.

4.5 Versuchsablauf

Begonnen wurde mit den Versuchen zur Oberflächen- und Leitungsanästhesie:

Nach Empfehlung von Schwartz (1973) wurden pro Substanz und Lösungsvermittler mindestens drei Konzentrationen, die möglichst im therapeutisch relevanten Bereich bis zwei Stunden Wirkdauer lagen, hergestellt und an jeweils sechs Ratten getestet. Es wurden ausschließlich Tiere verwendet, deren Cornealreflex vor Versuchsbeginn auslösbar war bzw. die auf Reize an der Pfote reagierten. Die für die jeweilige Konzentration benötigte Substanzmenge wurde mit einer Feinwaage (Sartorius MC1, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) abgewogen und mit 1 ml Lösungsvermittler (0,5 % Tylose oder 50 % Propylenglycol) im Mörser mit dem Pistill verrührt, so dass eine homogene Wirkstoffzubereitung entstand. Der pH-Wert jeder Lösung wurde mit einem pH-Meter (Mikroprocessor pH537, WTW, Weilheim, Deutschland) gemessen; dieser betrug für alle Lösungen ca. 5 (mindestens 4,8 und höchstens 5,4). Zur Herstellung der Lösung der Fomocain-Base in neutralem pH wurde durch Zugabe von NaOH ein pH-Wert von 7 eingestellt. Die Anästhesiedauer wurde konzentrationsabhängig bestimmt. Lag die Anästhesiedauer über drei Stunden, wurde dies als Maximaldauer gewertet.

Die Prüfung der Anästhesie an der Cornea bzw. am N. ischiadicus erfolgte in definierten Zeitintervallen (Kap. 4.4.2, 4.4.3). Wenn die Substanz eine Wirkung zeigte, setzte bei der Testung der Oberflächenanästhesie die Schmerzausschaltung ein, nachdem die Wirkstofflösung eine Minute auf der Cornea belassen worden war. Dieser Zeitpunkt galt als Beginn der Anästhesie. Die Leitungsanästhesie begann erst nach einer Latenzzeit. Die Dauer der Anästhesie bzw. eventuell aufgetretener Paresen wurde ermittelt und für jedes Tier notiert.

Versuch zur Toxizitätsbestimmung:

Die Herstellung der Wirkstofflösungen erfolgte analog zu den Versuchen zur Anästhesie. Es wurden ebenso drei Dosierungen pro Substanz, gelöst in Tylose bzw. Propylenglycol, hergestellt. Die Applikation erfolgte, bezogen auf 100 g KM, intraperitoneal jeweils an sechs Ratten. Die Zeiten des Eintritts

toxischer Wirkungen und/oder des Todes wurden für jedes Tier protokolliert (Kap. 4.4.4).

Die Lösungsvermittler 0,5 % Tylose bzw. 50 % Propylenglycol allein, ohne Zusatz von Lokalanästhetika, waren wirkungslos.

4.6 Statistische Auswertung

Zur Auswertung der Versuchsergebnisse der Oberflächen- und Leitungsanästhesie wurden zunächst Dosis-Wirkungs-Beziehungen betrachtet. Auf der Abszisse wurde die Konzentration logarithmisch und auf der Ordinate die Wirkung (Dauer der Anästhesie) linear abgetragen. Bei allen Versuchen wurde durch diese Darstellung ein annähernd linearer Verlauf der Dosis-Wirkungs-Beziehung erhalten. Es gilt somit die allgemeine Geradengleichung, in der x den Logarithmus der Konzentration darstellt. Es wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, wobei die Regressionsgerade nach dem Prinzip der kleinsten Quadrate berechnet wurde (Klöcking et al. 1990). Mit den Gleichungen (2) und (3) wurde die Steigung (m) und der Schnittpunkt mit der y -Achse (b) bestimmt.

$$b = \bar{y} - m \cdot \bar{x} \quad (2)$$

$$m = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - n \cdot \bar{x} \cdot \bar{y}}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

b	Schnittpunkt der Geraden mit der y -Achse
\bar{y}	Mittelwert aus allen y -Werten
\bar{x}	Mittelwert aus allen x -Werten
m	Anstieg der Geraden
n	Tierzahl pro Versuch
x_i	Einzelwerte x (Konzentration)
y_i	Einzelwerte y (Dauer der Anästhesie)

Die Ordinatenwerte (Wirkungen) streuten in vertikaler Richtung zu den Abszissenwerten (Konzentrationen). Im folgenden Schritt wurde nun das Ausmaß der Streuung von b und m ermittelt. Dazu war vorauszusetzen, dass die wahre Regressionsfunktion tatsächlich eine Gerade ist und dass die Ordinatenwerte y an allen Stellen der Gerade in gleichem Maße um diese in

vertikaler Richtung streuen, d. h. die gleiche Varianz s^2 besitzen. Die zufälligen Abweichungen von der Geraden müssen normal verteilt und voneinander unabhängig sein. Die Varianz s^2 wurde mit Gleichung (4) ermittelt.

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - b - m \cdot x_i)^2}{n - 2} = \frac{(n-1) \cdot s_y^2 - m^2 \cdot (n-1) \cdot s_x^2}{n - 2} \quad (4)$$

$$= \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 - m^2 \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 2}$$

s^2 Gesamtvarianz
 s_y^2 Varianz von y
 s_x^2 Varianz von x

Mit den Gleichungen (5) und (6) wurden die Varianzen von b und m berechnet.

$$s_b^2 = s^2 \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \right) \quad (5)$$

$$s_m^2 = \frac{s^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (6)$$

s_m^2 Varianz des Anstiegs m
 s_b^2 Varianz des Schnittpunktes (b) mit der y-Achse

Um letztendlich die Wirkungen der verschiedenen Substanzen untereinander vergleichen zu können, wurden sog. effektive Konzentrationen (EC) berechnet. Die effektive Konzentration einer Substanz ist die Konzentration, die benötigt wird, um eine zuvor festgelegte Wirkung zu erzielen. Bei der Oberflächenanästhesie und bei der Leitungsanästhesie wurden jeweils die EC für eine Wirkdauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten (= y_0) bestimmt. Je

geringer die EC war, desto wirksamer war die Substanz. Nach Umstellung der Geradengleichung (2) erhält man folgende Gleichung (7):

$$x_0 = \frac{y_0 - b}{m} \quad (7)$$

x_0 Konzentration, die benötigt wird, um eine vorgegebene Anästhesiedauer zu erreichen.

y_0 festgelegte Wirkdauer, die erreicht werden soll

Unter Verwendung des dekadischen Logarithmus ist dann:

$$EC = 10^{x_0} \quad (8)$$

EC effektive Konzentration für festgelegte Wirkdauer

Die Berechnung der EC durfte nur dann erfolgen, wenn die Steigung m signifikant von Null verschieden war, d. h. der Wert Null nicht im Konfidenzintervall von m lag: $m \pm t_{n-2;a} \cdot s_m$, wobei $t_{n-2;a}$ das α -Quantil der t-Verteilung zu $n-2$ Freiheitsgraden ist. Für alle Berechnungen wurde ein Konfidenzniveau von 95 % ($p \leq 0,05$) gewählt. Die ermittelten EC-Werte unterschieden sich signifikant voneinander, wenn sich die Konfidenzintervalle von x_0 nicht überlagerten. Die Intervallgrenzen wurden nach Gleichung (9) berechnet.

$$x_a = \bar{x} - m \cdot \frac{\bar{y} - y_0}{w} \pm t_{n-2;a} \cdot \frac{s}{w} \cdot \sqrt{\frac{w}{n} + \frac{(\bar{y} - y_0)^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (9)$$

$$w = m^2 - (t_{n-2;a})^2 \cdot \frac{s^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (10)$$

x_a jeweils obere bzw. untere Grenze des 95 % - Konfidenzintervalls der Konzentration x_0 (Gleichung 7) zur festgelegten Anästhesiedauer y_0 .

Die Auswertung der LD₅₀ erfolgte nach der Methode von Miller und Tainter (1944). Die Zahl der gestorbenen Tiere nimmt mit steigender Dosis zu. Im

linearen Koordinatensystem erhält man eine sigmoide Dosis-Letalitäts-Kurve. Werden die Dosierungen (Abszisse) logarithmisch und die Prozentwerte gestorbener Tiere (Ordinate) in sog. Probit-Einheiten abgetragen, erhält man eine Gerade. Die zu bestimmten Prozentwerten gehörenden Probits sind durch Miller und Tainter tabelliert worden. An der Stelle, an der die Gerade auf der Ordinate den Probit-Wert 5 annimmt, kann auf der Abszisse die LD₅₀ in mg/kg KM abgelesen werden. In die Berechnung der Streuung (s) der LD₅₀ geht die Summe der verwendeten Tiere (n) ein. Die Streuung kann mit Gleichung (11) berechnet werden. Je größer die Tieranzahl ist, umso genauer kann die LD₅₀ bestimmt werden.

$$s_{LD_{50}} = \frac{Dosis(PROBIT\ 6) - Dosis(PROBIT\ 4)}{\sqrt{2n}} \quad (11)$$

$s_{LD_{50}}$ - Streuung
 n - Tieranzahl

Für die Bestimmung der approximativen LD₅₀ sind mindestens drei Dosierungen nötig, deren Letalität möglichst 20 %, 50 % und 80 % beträgt. Bei mangelnder Annäherung der Regressionsgeraden an diese drei Punkte wurden weitere Dosierungen untersucht. Die Regressionsgerade zur Bestimmung der LD₅₀ wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnet.

5 Ergebnisse

5.1 Bestimmung der lokalanästhetischen Wirksamkeit und Toxizität des Fomocain in Abhängigkeit von der galenischen Zubereitung

Fomocain wurde in vier unterschiedlichen Darreichungsformen, als Hydrochlorid (Fomo-HCl), als Base mit pH 5 (Fomo-Base pH 5) bzw. pH 7 (Fomo-Base pH 7) und als Cyclodextrin-Einschlussverbindung (Fomo-Cyc) im Versuch zur Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte getestet. Als Lösungsvermittler wurde 0,5 % Tylose verwendet. Es wurden verschiedene Konzentrationen appliziert und die Dauer der Wirkung bestimmt (Abb. 16, Anhang Tab. 7).

In Konzentrationen <0,5 % liegt die Dosis-Wirkungs-Kurve für die Fomo-Base (pH 5) etwas nach links verschoben. In Konzentrationen > 0,5 % weisen Fomo-HCl, Fomo-Base (pH 5) und Fomo-Cyc einen annähernd gleichen Verlauf der Regressionsgeraden auf.

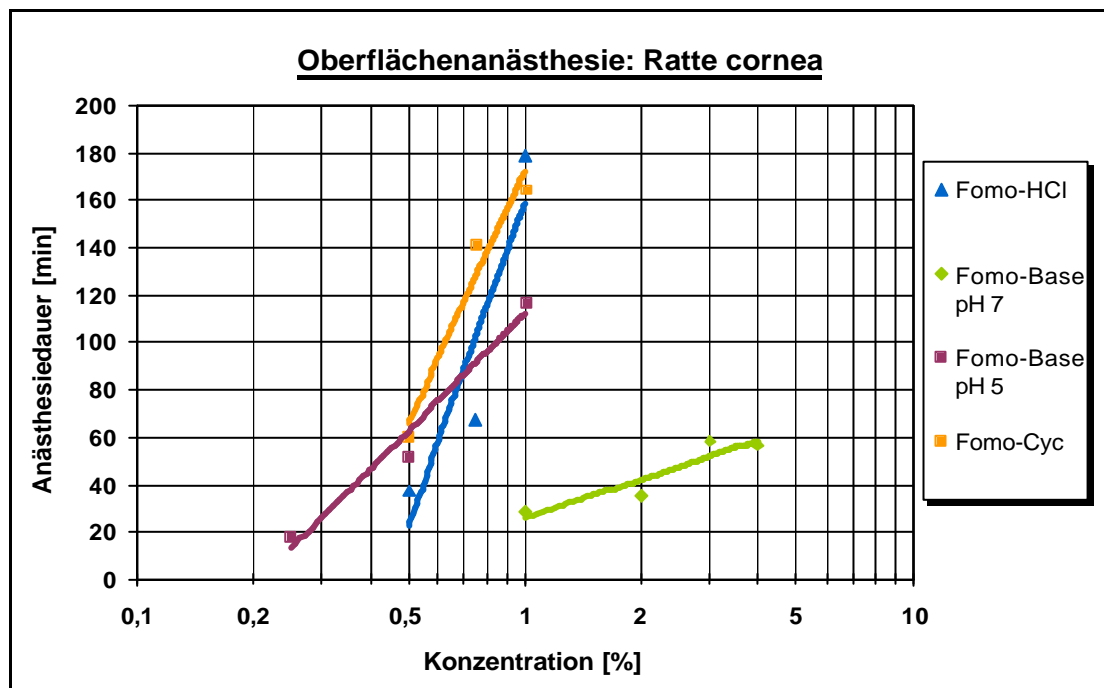


Abbildung 16: Einfluss der galenischen Zubereitung des Fomocain auf die Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte (Regressionsgeraden). Verglichen wurden das Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl) mit der Fomocain-Base (pH 7), mit der Fomocain-Base (pH 5; Angaben aus Loy (2003)) und mit dem Fomocain-Cyclodextrin (Fomo-Cyc; Angaben aus Fleck et al. (2004)). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

Völlig anders verläuft die Kurve der Fomo-Base (pH 7). Sie liegt weit nach rechts verschoben und hat nur einen sehr flachen Anstieg.

Aus der Oberflächenanästhesiedauer wurden effektive Konzentrationen zur Herbeiführung einer Anästhesie von 10, 20, 30 und 40 Minuten berechnet (Abb. 17, Anhang Tab. 9). Für eine 10- und 20-minütige Anästhesie der Cornea wurden von der Fomo-Base (pH 5) signifikant geringere Konzentrationen benötigt als von Fomo-HCl. Für länger anhaltende Wirkungen (30 und 40 Minuten) sind von Fomo-HCl, Fomo-Base (pH 5) und Fomo-Cyc ähnliche Dosierungen erforderlich. Die effektiven Konzentrationen unterscheiden sich nicht signifikant. Bei der Fomo-Base (pH 7) liegt die effektive Konzentration deutlich höher, um an der Cornea eine vergleichbare Anästhesiedauer auszulösen.

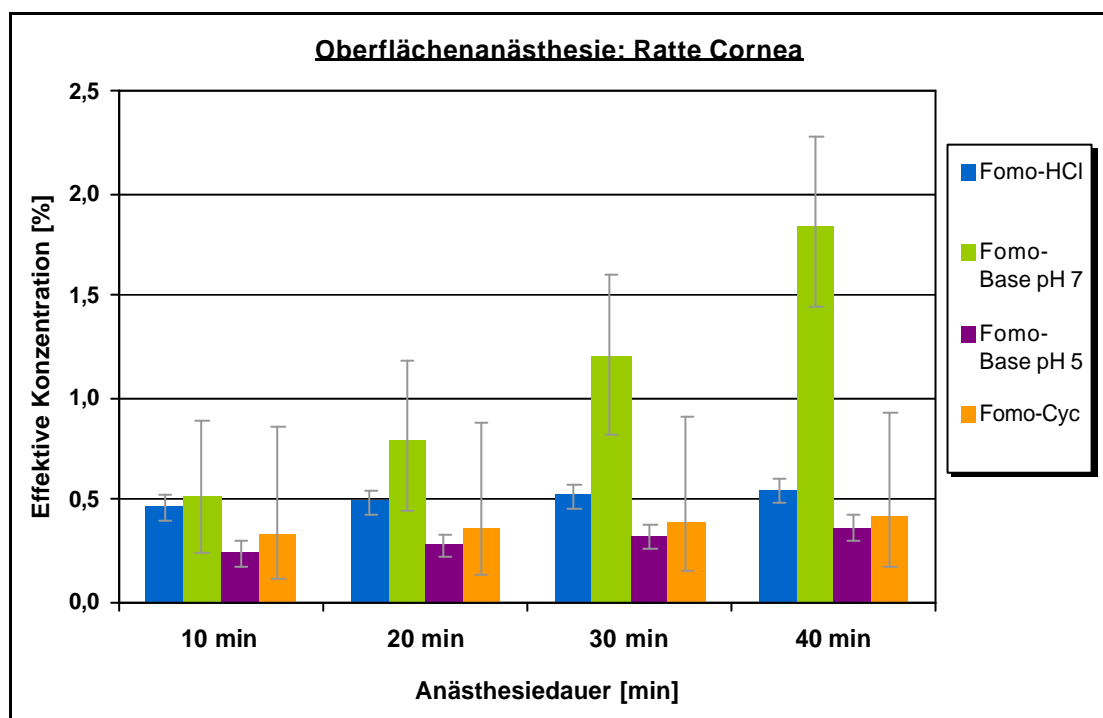


Abbildung 17: Einfluss der galenischen Zubereitung des Fomocain auf die effektiven Konzentrationen mit Angabe des 95%-Konfidenzintervalls für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 min an der Cornea der Ratte. Verglichen wurden das Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl) mit der Fomocain-Base (pH 7), mit der Fomocain-Base (pH 5; Angaben aus Loy (2003)) und mit dem Fomocain-Cyclodextrin (Fomo-Cyc; Angaben aus Fleck et al. (2004)). $n = 6$ pro Gruppe.

Analoge Untersuchungen des Zusammenhanges zwischen der Zubereitungsform des Fomocain und der Leitungsanästhesie wurden ebenfalls durchgeführt (Abb. 18, Anhang Tab. 11). Der Kurvenverlauf von Fomo-HCl legt nahe, dass das Hydrochlorid die stärkste Wirkung hervorruft. Im Vergleich dazu benötigt man von den anderen Fomocainzubereitungen, deren Kurven weiter rechts verlaufen, höhere Konzentrationen, um den gleichen Effekt hervorzurufen.

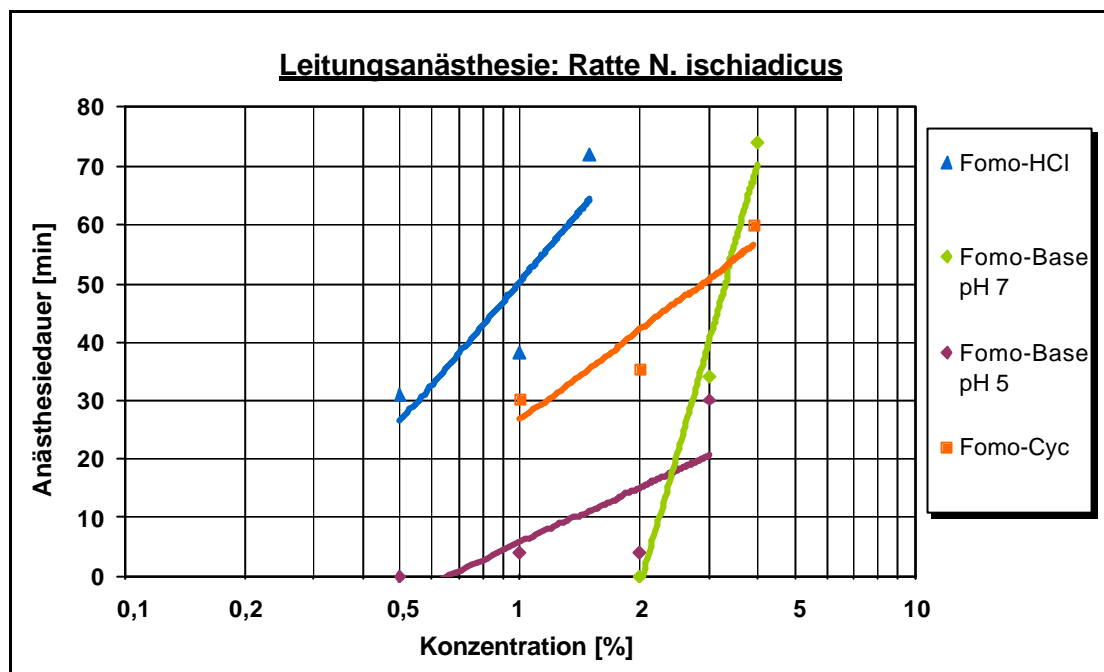


Abbildung 18: Einfluss der galenischen Zubereitung des Fomocain auf die Dauer der Leitungsanästhesie am *N. ischiadicus* der Ratte (Regressionsgeraden). Verglichen wurden das Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl) mit der Fomocain-Base (pH 7), mit der Fomocain-Base (pH 5; Angaben aus Loy (2003)) und mit dem Fomocain-Cyclodextrin (Fomo-Cyc; Angaben aus Fleck et al. (2004)). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

In Abb. 19 sind für die 4 unterschiedlichen Fomocainzubereitungen die effektiven Konzentrationen zur Auslösung einer Leitungsanästhesie von 10, 20, 30 und 40 Minuten dargestellt (Anhang Tab. 13). Die optimale Eignung des Hydrochlorids gegenüber den beiden Basen (pH 5 und pH 7) ist augenfällig. Von den Basen benötigt man für 20, 30 und 40 Minuten Anästhesiedauer signifikant höhere effektive Konzentrationen. Für eine Anästhesiedauer >10 Minuten ist die extrem hohe effektive Konzentration der Fomo-Base (pH 5) eindrucksvoll. Dagegen liegen die erforderlichen effektiven Konzentrationen des Fomo-Cyc in der gleichen Größenordnung, wie die des Fomo-HCl.

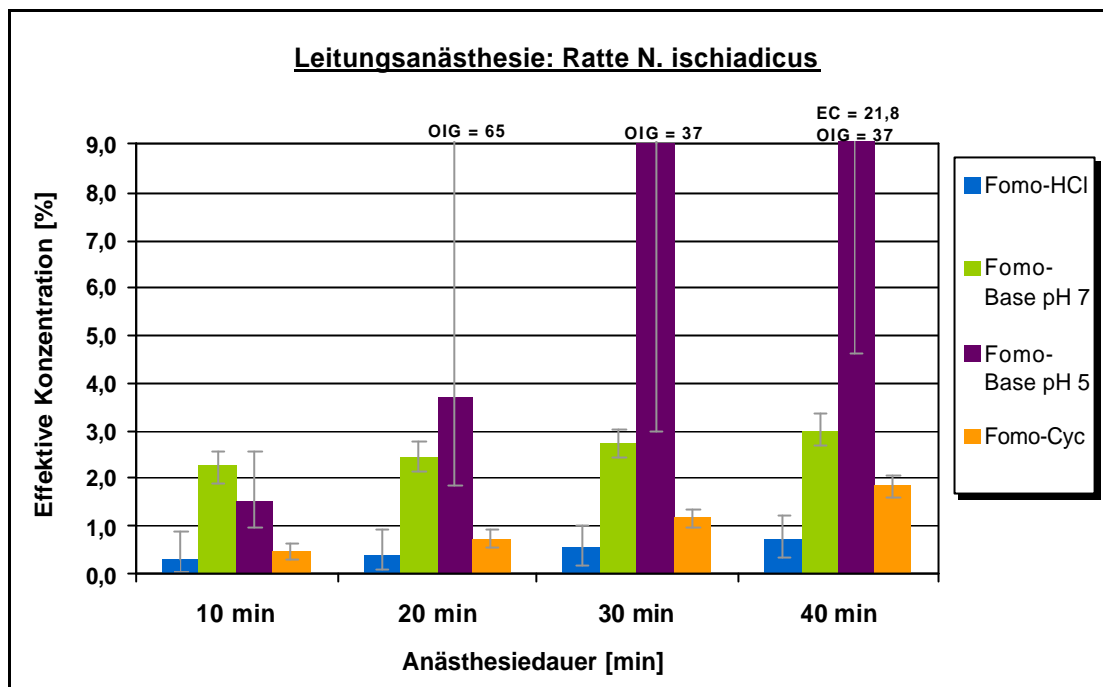


Abbildung 19: Einfluss der galenischen Zubereitung des Fomocain auf die effektiven Konzentrationen (EC) mit Angabe des 95%-Konfidenzintervalls (OIG = obere Intervallgrenze) für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 min am N. ischiadicus der Ratte. Verglichen wurden das Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl) mit der Fomocain-Base (pH 7), mit der Fomocain-Base (pH 5; Angaben aus Loy (2003)) und mit dem Fomocain-Cyclodextrin (Fomo-Cyc; Angaben aus Fleck et al. (2004)). $n = 6$ pro Gruppe.

Zur Bestimmung der Toxizität der verschiedenen Fomocainzubereitungen wurde die approximative LD_{50} für Fomo-HCl, für die Fomo-Base (pH 5 und pH 7) und für Fomo-Cyc miteinander verglichen (Abb. 20, Anhang Tab. 17). Die höchste Letalität tritt nach Gabe von Fomocain als Base (pH 5) auf, deren LD_{50} erheblich geringer war, als bei den anderen Zubereitungsformen. Als Base (pH 7) ist Fomocain deutlich weniger toxisch. Für das Fomo-Cyc wurde eine ähnliche LD_{50} ermittelt wie für Fomo-HCl.

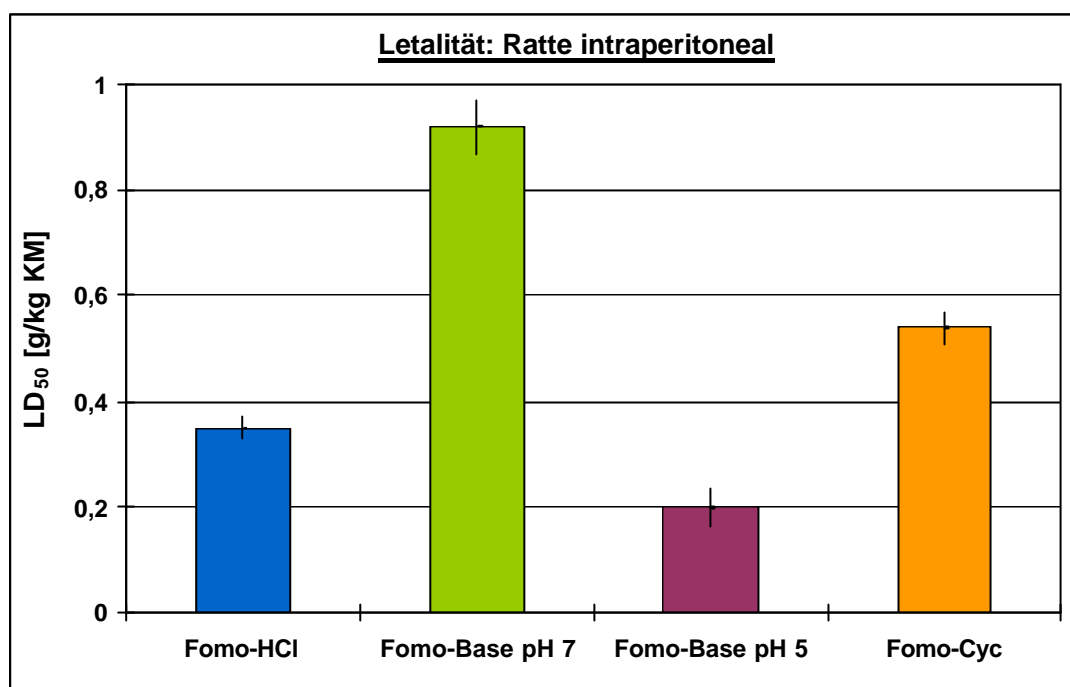


Abbildung 20: Vergleich der LD₅₀ (\pm Streuung) nach i.p. Injektion an der Ratte von Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl) mit der Fomocain-Base (pH 7), mit der Fomocain-Base (pH 5; Angaben aus Loy (2003)) und mit dem Fomocain-Cyclodextrin (Fomo-Cyc; Angaben aus Fleck et al. (2004)). Berechnung nach Miller und Tainter (1944). $n = 6$ pro Konzentration; 3 - 4 Konzentrationen pro Substanz.

5.2 Bestimmung der Oberflächenanästhesie neuer Fomocainderivate

Die Morphin- und Diethanolaminderivate des Fomocain wurden an der Cornea der Ratte auf ihre Eignung zur Oberflächenanästhesie getestet. Hierbei wurde die Anästhesiedauer konzentrationsabhängig bestimmt (siehe Abb. 21 - 26, Anhang Tab. 7). Als Referenzsubstanz wurde Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl) verwendet.

5.2.1 C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten

In der Gruppe der Morpholinderivate mit Seitenketten in 2-Position (Abb. 21) zeigt die Substanz mit der längsten Seitenkette, OW 7, bis zu einer Konzentration von etwa 0,75 % den stärksten oberflächenanästhetischen Effekt. OW 7 wirkt bereits in Konzentrationen unterhalb von 0,5 % lokalanästhetisch, wogegen die übrigen Substanzen dieser Gruppe einschließlich der Referenzsubstanz Fomo-HCl erst bei höheren Konzentrationen eine Schmerzausschaltung an der Cornea bewirken. Die Substanzen OW 1 und OW 3 verhalten sich bezüglich ihrer

oberflächenanästhetischen Wirksamkeit analog zu Fomo-HCl. Für OW 5 wurde eine flachere Dosis-Wirkungs-Kurve ermittelt, die annähernd parallel zu der von OW 7 verläuft. Es sind jedoch deutlich höhere Konzentrationen erforderlich, um eine mit OW 7 vergleichbare Anästhesiedauer hervorzurufen.

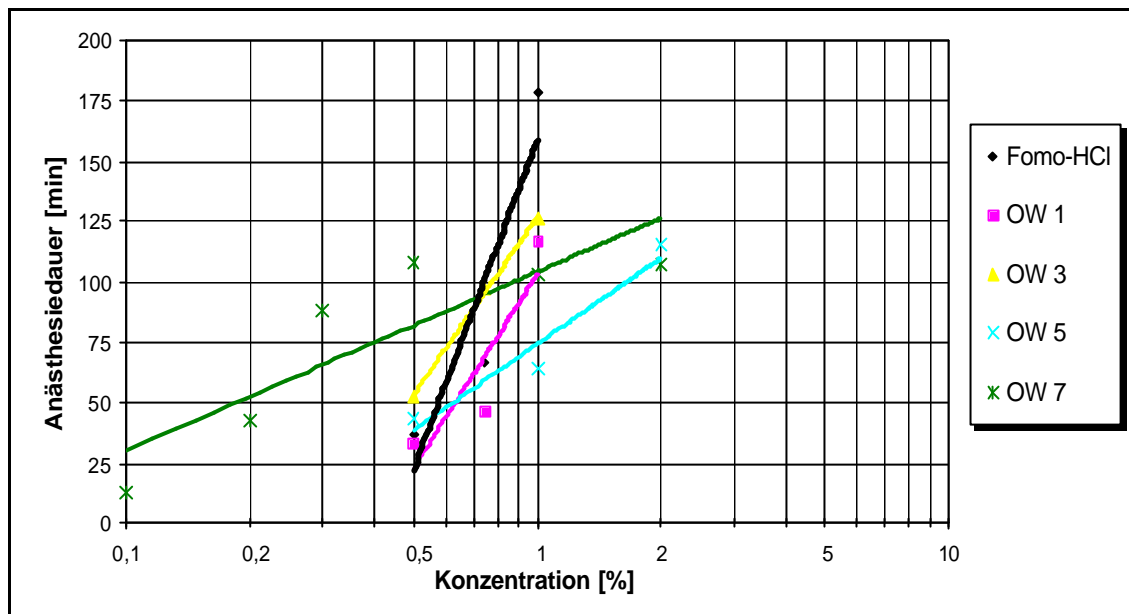


Abbildung 21: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte (Regressionsgeraden) für die Morpholinderivate OW 1, OW 3, OW 5 und OW 7 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe; Angaben zu OW 1, OW 3 und OW 5 aus Fleck et al. (2004).

In der Gruppe der Morpholinderivate mit Seitenketten in 3-Position (Abb. 22) tritt ebenfalls bei der Substanz mit der längsten Seitenkette, OW 13, die oberflächenanästhetische Wirkung bereits bei den niedrigsten getesteten Konzentrationen ($< 0,5$ %) auf. Die lokalanästhetischen Wirkungen von OW 9 und OW 11 liegen im gleichen Konzentrationsbereich wie die von Fomo-HCl. Der Vergleich der Kurvenverläufe legt nahe, dass die maximal erreichbare Wirkdauer der Lokalanästhesie bei OW 9 und OW 11 sowie bei Fomo-HCl länger ist als bei OW 13.

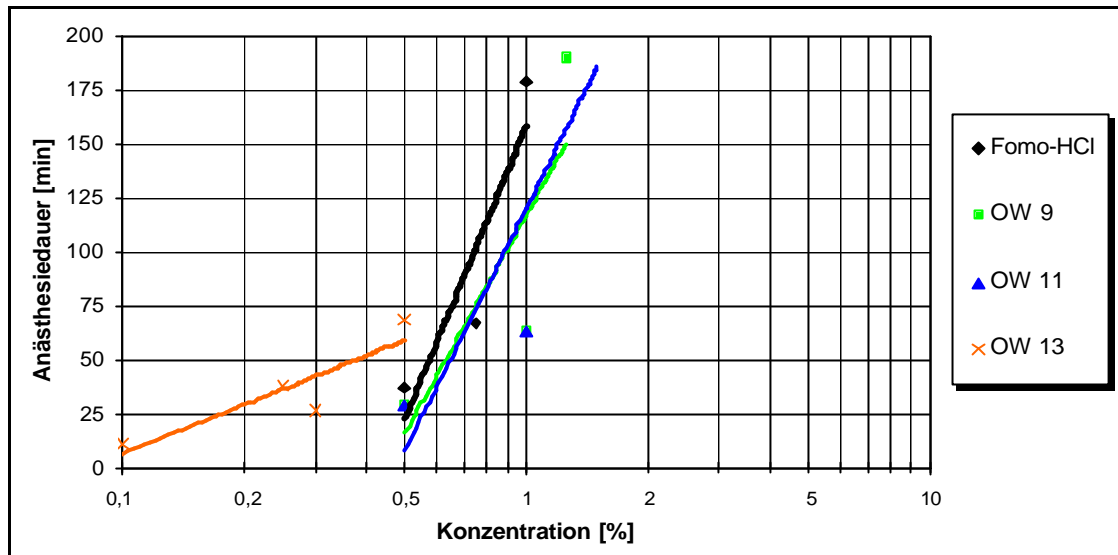


Abbildung 22: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte (Regressionsgeraden) für die Morpholinderivate OW 9, OW 11 und OW 13 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe; Angaben zu OW 9 und OW 11 aus Fleck et al. (2004).

5.2.2 Andere Morpholinderivate

Bei den anderen Morpholinderivaten (Abb. 23) ist die Dosis-Wirkungs-Kurve der Substanz Oe 100 in Bezug zur Referenzsubstanz nach links verschoben und zeigt damit schon in niedrigen Konzentrationsbereichen stärkere oberflächenanästhetische Effekte als Fomo-HCl.

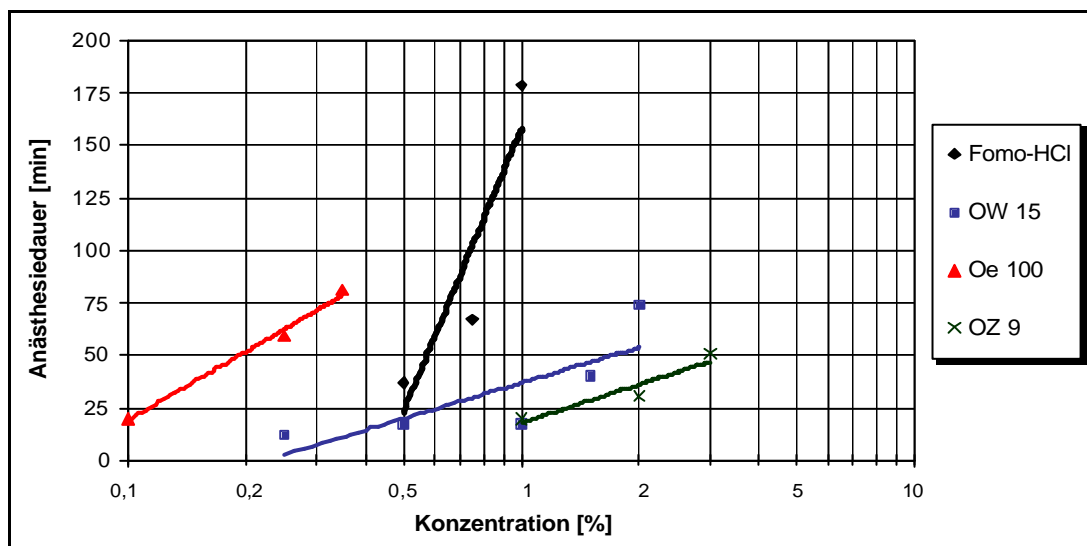


Abbildung 23: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte (Regressionsgeraden) für die Morpholinderivate OW 15, Oe 100 und OZ 9 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

Die Dosis-Wirkungs-Kurven von OW 15 und OZ 9 verlaufen ausgesprochen flach, was für eine sehr geringe lokalanästhetische Wirksamkeit spricht. Höhere Dosen konnten aufgrund der schlechten Löslichkeit der Substanzen nicht getestet werden.

5.2.3 Thiofomocaine mit Morpholin- und Diethanolaminstruktur

In der Gruppe der Thiofomocaine mit Morpholinstruktur (Abb. 24) sind die Dosis-Wirkungs-Kurven der Derivate Oe 4000 und Oe 2000 zwar geringfügig nach links verschoben, zeigen jedoch eine dem Fomo-HCl vergleichbare Wirkstärke. Ein Zusammenhang zwischen der Länge der Zwischenkette und der Wirkdauer ist nicht eindeutig. Oe 4000 besitzt von den Substanzen dieser Gruppe die längste Zwischenkette und ist im getesteten Dosierungsbereich geringfügig wirksamer. Mit Abnahme der Kettenlänge sinkt die Wirksamkeit. Von Oe 3000 wurden deutlich höhere Konzentrationen zur Erzielung gleicher Wirkdauer benötigt. Oe 5555 ist als Oberflächenanästhetikum praktisch nicht geeignet.

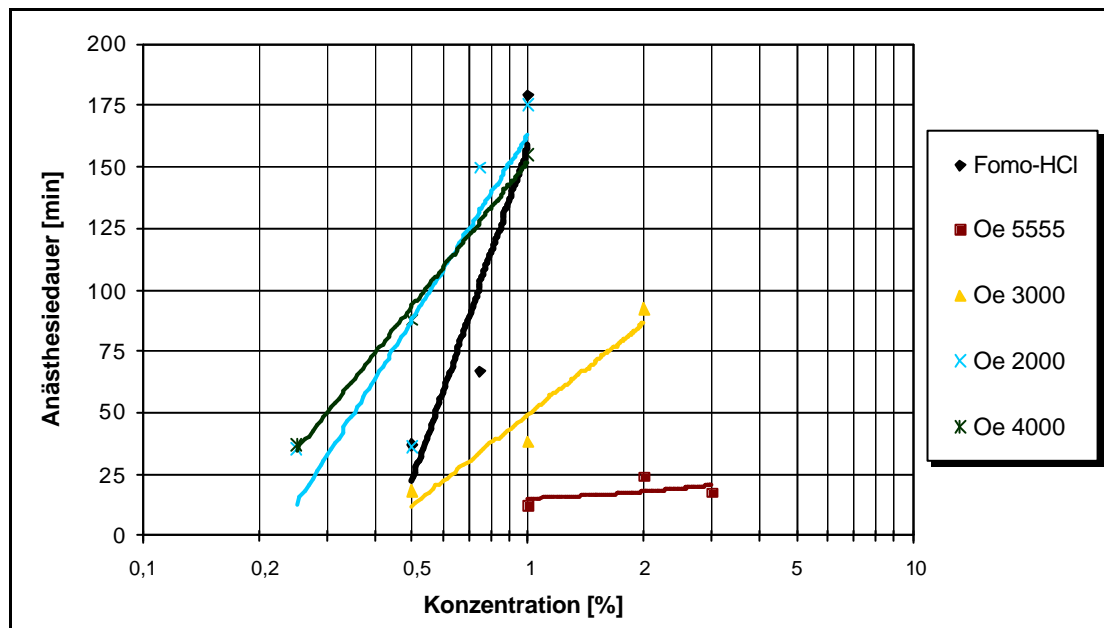


Abbildung 24: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte (Regressionsgeraden) für die Thiofomocaine Oe 5555, Oe 3000, Oe 2000 und Oe 4000 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

Die Thiofomocaine mit Diethanolaminstruktur (Abb. 25) zeigen eine eindeutige Korrelation der Dosis-Wirkungs-Beziehung zur Länge der

Zwischenkette. Auch hier ist das Derivat mit der längsten Zwischenkette, Oe 4500, schon in niedrigen Konzentrationen gut lokalanästhetisch wirksam. Die Substanz Oe 2500 ist wirksamer als Fomo-HCl. Dagegen wirkt Oe 3500 jedoch etwas schwächer als Fomo-HCl und die anderen Diethanolthiofomocaine. Es ist bemerkenswert, dass in dieser Gruppe die Anstiege der Dosis-Wirkungs-Kurven nahezu parallel sind und sich analog zu dem von Fomo-HCl verhalten.

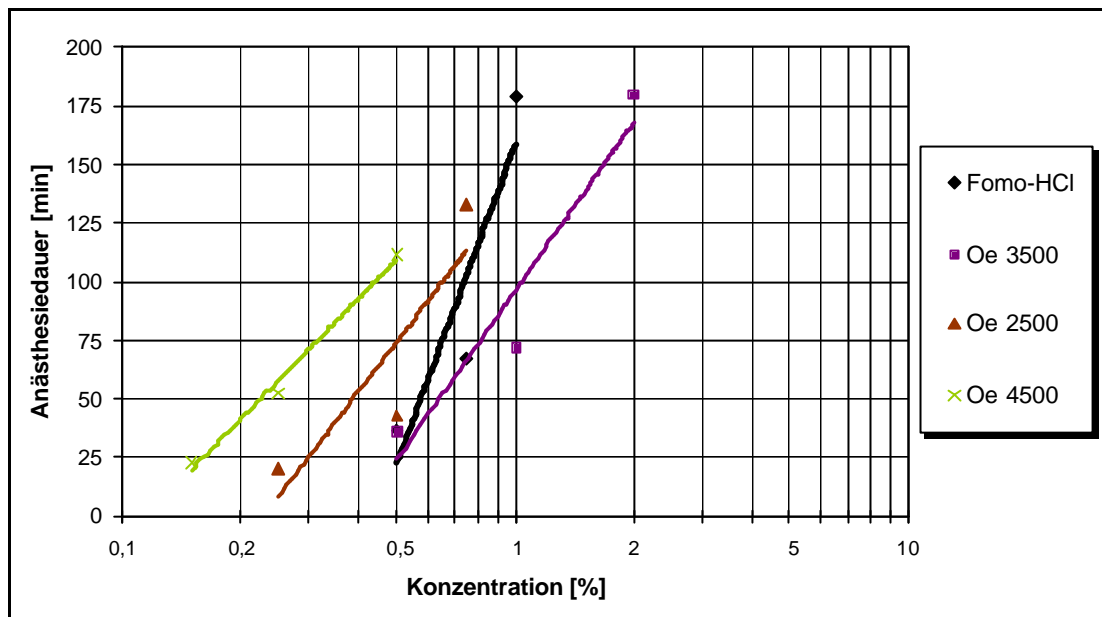


Abbildung 25: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte (Regressionsgeraden) für die Thiofomocaine Oe 3500, Oe 2500 und Oe 4500 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

5.2.4 Effektive Konzentrationen

Um einen besseren Vergleich der Testsubstanzen vornehmen zu können, wurden effektive Konzentrationen für eine Wirkdauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten extrapoliert (Anhang Tab. 9). Die Werte der für die jeweilige Anästhesiedauer erforderlichen effektiven Konzentrationen und die Intervallgrenzen des 95%-Konfidenzintervalls sind für alle Substanzen synoptisch in Abb. 26 dargestellt.

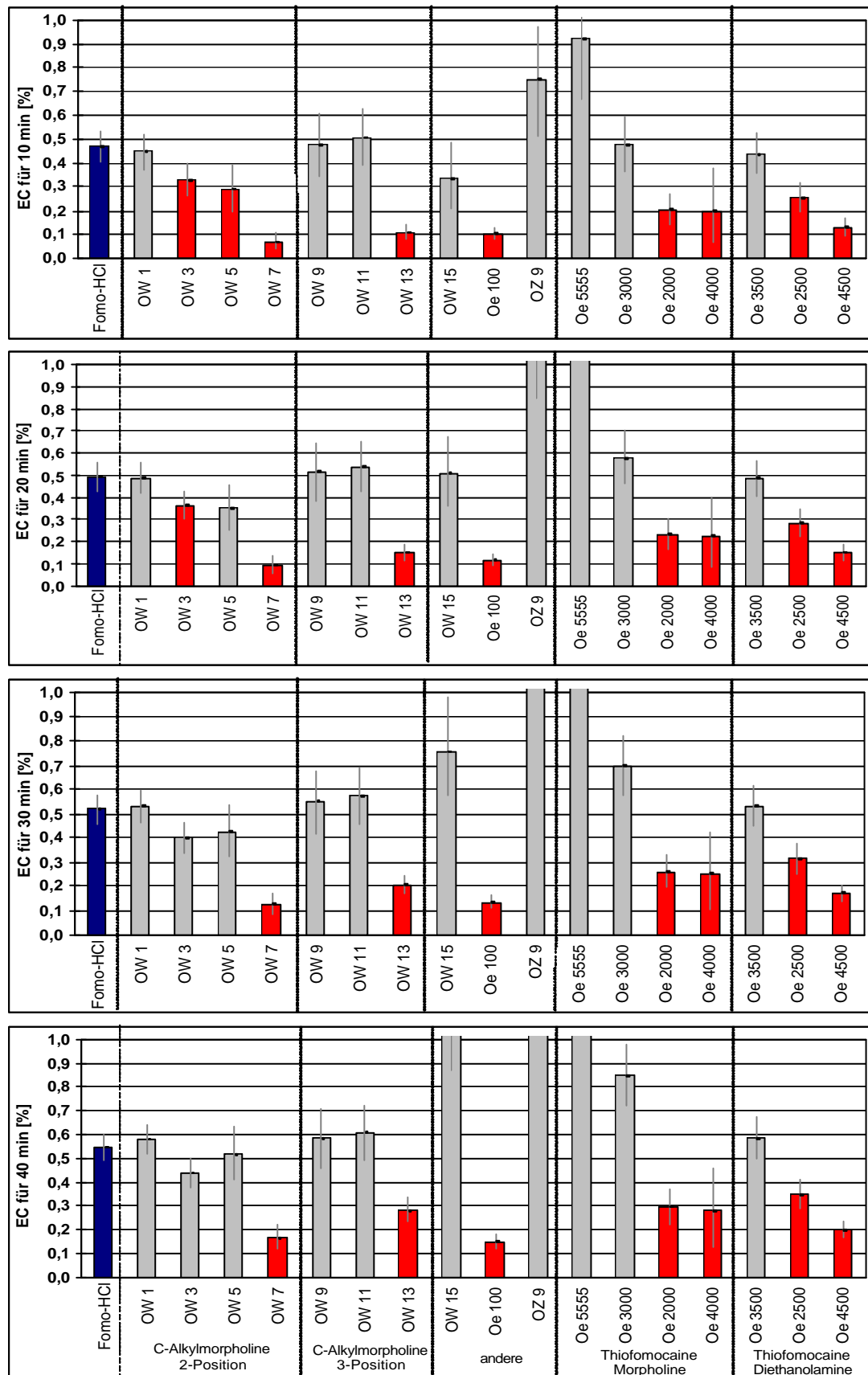


Abbildung 26: Vergleich der effektiven Konzentrationen (EC) mit Angabe des 95 %-Konfidenzintervalls für die Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 min an der Cornea der Ratte für die Referenzsubstanz Fomo-HCl und die Morpholinderivate des Fomocain sowie die Thiofomocaine (gelöst in 0,5 % Tylose), $n=6$ pro Gruppe. (Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5 und OW 11 aus Fleck et al. (2004)); Im Vergleich zu Fomo-HCl signifikant stärkere Wirkungen sind rot hervorgehoben ($p=0,05$).

Morpholinderivate mit Seitenketten in 2-Position: Um an der Cornea eine Anästhesiedauer von 10 Minuten zu erzeugen, benötigt man von OW 7 die geringste Konzentration. Damit ist OW 7 signifikant besser wirksam als Fomocain-HCl. Gleiches gilt für OW 3 und OW 5. OW 1 unterscheidet sich dagegen nicht signifikant von Fomo-HCl. Für eine Dauer von 20 Minuten zeigt abermals OW 7 die beste Wirkung und wirkt damit, ebenso wie OW 3, signifikant besser als Fomo-HCl. OW 1 und OW 5 unterscheiden sich nicht von der Referenzsubstanz. Bei einer Anästhesiedauer von 30 und 40 Minuten unterscheidet sich lediglich die Substanz OW 7 signifikant von Fomo-HCl. Die Substanzen OW 1, OW 3 und OW 5 weisen somit zur Herbeiführung einer länger andauernden Oberflächenanästhesie eine ähnliche Wirkung auf wie Fomo-HCl.

Morpholinderivate mit Seitenketten in 3-Position: Zu allen vier Zeiten (10, 20, 30 und 40 Minuten) zeigt die Substanz OW 13 die stärkste Wirksamkeit. Es reichen signifikant geringere Konzentrationen als von Fomocain-HCl aus, um die jeweilige Anästhesiedauer zu erhalten. Die beiden anderen Substanzen, OW 9 und OW 11, unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant von der Referenzsubstanz.

Andere Morpholinderivate: Die Substanz Oe 100 zeigt die stärksten Wirkungen für diese Gruppe. Für eine Anästhesie von 10, 20, 30 und 40 Minuten werden jeweils signifikant geringere Konzentrationen als von der Referenzsubstanz benötigt. Die Verbindungen OW 15 und OZ 9 sind zu keinem Zeitpunkt hinreichend stark lokalanästhetisch wirksam. Die extrapolierten effektiven Konzentrationen liegen weit oberhalb von denen des Fomo-HCl.

Thiofomocaine mit Morpholinstruktur: Bei den beiden Substanzen mit den längeren Zwischenketten, Oe 4000 und Oe 2000, wurden signifikant geringere Konzentrationen als von Fomo-HCl benötigt, um gleiche lokalanästhetische Wirkungen hervorzurufen. Die kurzkettigen Verbindungen sind in ihrer lokalanästhetischen Wirkung mit Fomo-HCl vergleichbar (Oe 3000), oder praktisch nicht als Oberflächenanästhetikum geeignet (Oe 5555).

Thiofomocaine mit Diethanolaminstruktur: Die effektiven Konzentrationen korrelieren auch in dieser Gruppe mit der Länge der Zwischenketten der

Testsubstanzen. Von den Fomocainderivaten mit den längeren Zwischenketten, Oe 4500 und Oe 2500, werden für alle vier Zeiten signifikant geringere Konzentrationen benötigt als von Fomo-HCl. Es fällt auf, dass zu allen Zeiten tendenziell die Verbindung Oe 4500 wirksamer ist im Vergleich zu Oe 2500. Das Derivat mit einer kürzeren Zwischenkette, Oe 3500, unterscheidet sich in seiner lokalanästhetischen Wirkung nicht von der Referenzsubstanz.

Bei allen getesteten Substanzen kam es weder zu sichtbaren morphologischen Veränderungen am Auge, noch zu einem irreversiblen Verlust des Cornealreflexes.

5.3 Bestimmung der Leitungsanästhesie neuer Fomocainderivate

Alle Substanzen wurden in 0,5 % Tylose gelöst und am N. ischiadicus der Ratte auf ihre leitungsanästhetische Wirkung getestet. Hierbei wurde, analog zur Oberflächenanästhesie (Kap. 5.2), die Anästhesiedauer konzentrationsabhängig bestimmt (Abb. 27 - 32, Anhang Tab. 11). Als Referenzsubstanz wurde Fomocain-Hydrochlorid verwendet. Anschließend wurden die effektiven Konzentrationen für eine Wirkdauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten berechnet.

5.3.1 C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten

Die Morpholinderivate mit Seitenketten in 2-Position (Abb. 27) zeigen alle im Vergleich zur Referenzsubstanz eine schwächere Wirkung. Die Dosis-Wirkungs-Kurven der Substanzen OW 1, OW 3 und OW 7 verlaufen zueinander und im Bezug zu Fomo-HCl annähernd parallel. Zur Erzielung der gleichen Wirkung wie die Referenzsubstanz sind aber erheblich höhere Konzentrationen notwendig. Die Substanz OW 5 zeigte keine leitungsanästhetische Wirkung.

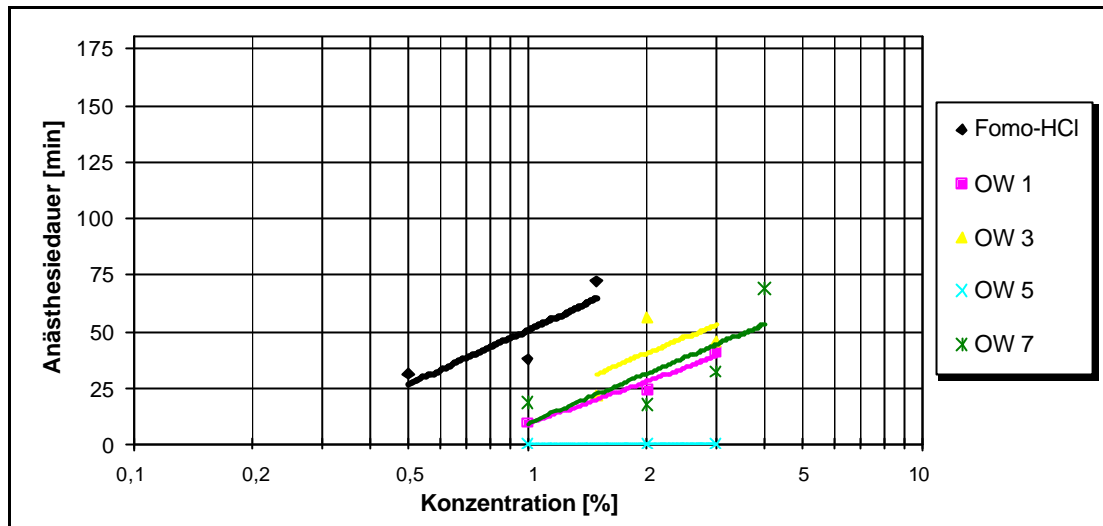


Abbildung 27: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte (Regressionsgeraden) für die Morpholinderivate OW 1, OW 3, OW 5 und OW 7 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe; Angaben zu OW 1, OW 3 und OW 5 aus Fleck et al. (2004).

In der Gruppe der Morpholinderivate mit Seitenketten in 3-Position (Abb. 28) weist die Substanz OW 11 einen sehr steilen Anstieg der Dosis-Wirkungs-Kurve auf und ermöglicht die Erzielung lang andauernder Leitungsanästhesien.

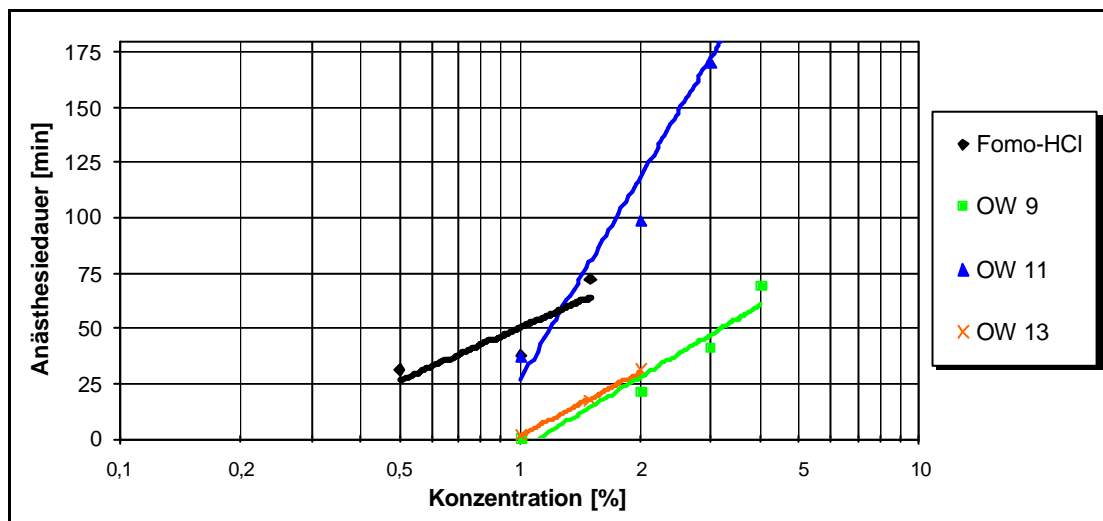


Abbildung 28: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte (Regressionsgeraden) für die Morpholinderivate OW 9, OW 11 und OW 13 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe; Angaben zu OW 9 und OW 11 aus Fleck et al. (2004).

Im therapeutisch relevanten Bereich von unter einer Stunde benötigt man zum Erreichen des selben Effektes aber höhere Konzentrationen als von

Fomo-HCl. OW 9 und OW 13 sind hinsichtlich ihrer Wirksamkeit dem Fomo-HCl deutlich unterlegen. Zwar verlaufen die Dosis-Wirkungs-Kurven von OW 9 und OW 13 näherungsweise parallel zur Kurve der Referenzsubstanz, jedoch beginnen ihre Wirkungen erst bei höheren Dosierungen. Konzentrationen unter 1 % riefen keinen Effekt hervor.

5.3.2 Andere Morpholinderivate

Bei den anderen Morpholinderivaten zeigt sich ein uneinheitliches Bild (siehe Abb. 29). Die Substanz Oe 100 ist hinsichtlich ihrer Wirkstärke geringfügig besser zu beurteilen als die Referenzsubstanz. Der Anstieg ihrer Dosis-Wirkungs-Kurve verläuft etwas steiler. Die Kurve von OW 15 ist weit nach rechts verschoben. Um eine Leitungsanästhesie zu erzeugen werden relativ hohe Konzentrationen benötigt. Die Substanz OZ 9 ist ebenfalls nur schwach wirksam. Ihr Kurvenverlauf ist sehr flach, langandauernde Leitungsanästhesien sind nicht möglich.

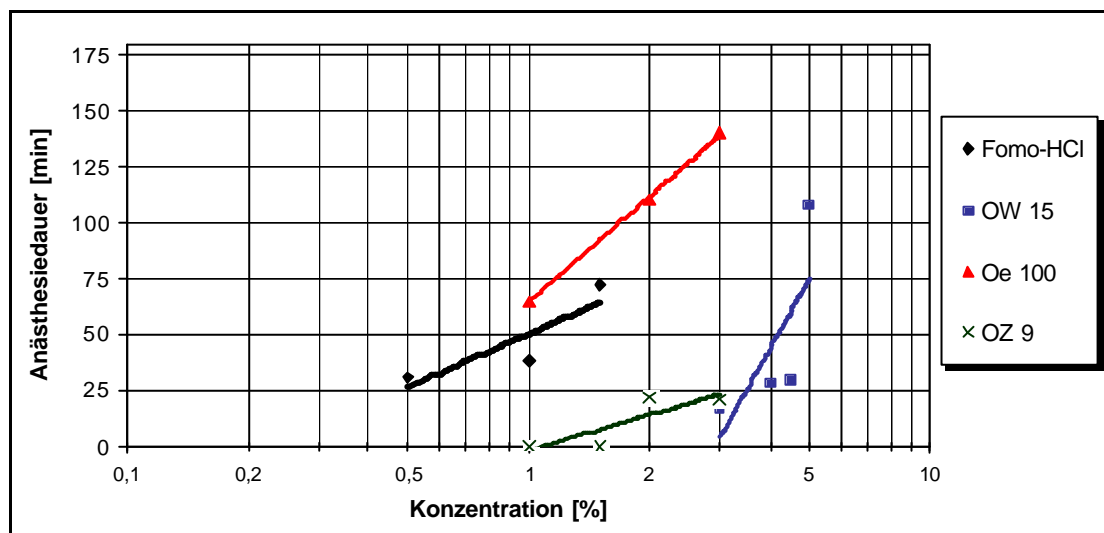


Abbildung 29: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte (Regressionsgeraden) für die Morpholinderivate OW 15, Oe 100 und OZ 9 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

5.3.3 Thiofomocaine mit Morpholin- und Diethanolaminstruktur

In der Gruppe der Thiofomocaine mit Morpholinstruktur (Abb. 30) zeigt die Substanz Oe 4000 ein nahezu identisches Verhalten wie die Referenzsubstanz. Oe 5555 kann nur in höheren Konzentrationen einen mit Fomo-HCl vergleichbaren Effekt erzielen. Für die Substanzen Oe 2000 und

Oe 3000 lassen sich, bedingt durch ihre schlechte Löslichkeit, keine Dosis-Wirkungs-Kurven ermitteln. Oe 2000 ist in einer Konzentration von 1 % in der Lage, eine ähnliche Anästhesiedauer wie Fomo-HCl zu erzielen. Oe 3000 ist nur sehr kurz wirksam.

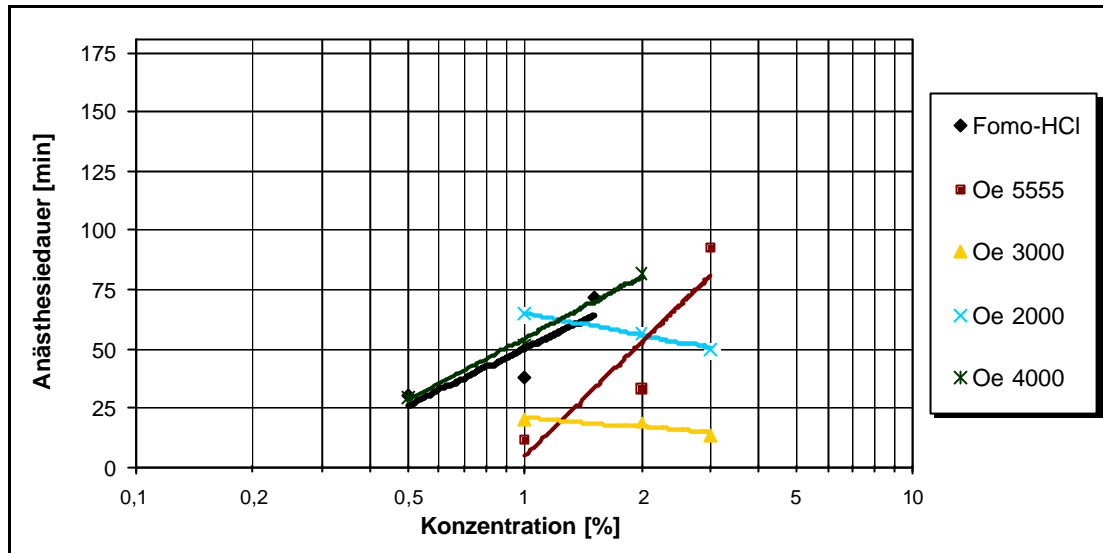


Abbildung 30: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte (Regressionsgeraden) für die Thiofomocaine Oe 5555, Oe 3000, Oe 2000 und Oe 4000 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

Die Thiofomocaine mit Diethanolaminstruktur (Abb. 31) verhalten sich alle ähnlich wie die Referenzsubstanz.

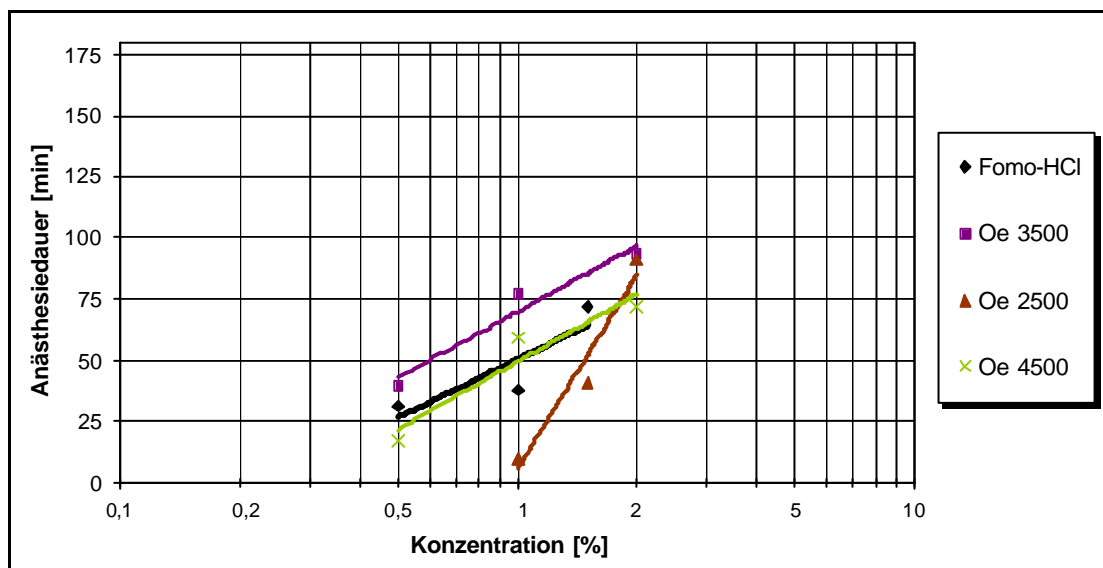


Abbildung 31: Konzentrationsabhängigkeit der Dauer der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte (Regressionsgeraden) für die Thiofomocaine Oe 3500, Oe 2500 und Oe 4500 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Arithmetische Mittelwerte; $n = 6$ pro Gruppe.

Die Dosis-Wirkungs-Kurven von Oe 3500 und Oe 4000 verlaufen annähernd parallel zu der von Fomo-HCl, die Kurve von Oe 3500 ist leicht nach links verschoben. Oe 3500 benötigt somit geringfügig niedrigere Konzentrationen als Fomo-HCl, um eine Leitungsanästhesie von gleicher Dauer auszulösen. Die Kurve von Oe 2500 zeigt einen steileren Anstieg als die Kurven der beiden anderen Substanzen dieser Gruppe. Oe 2500 ist in niedrigen Konzentrationen schwächer wirksam als die Referenzsubstanz.

5.3.4 Effektive Konzentrationen

Um eine Vergleichbarkeit aller getesteten Substanzen zu erleichtern, wurden für die Leitungsanästhesie effektive Konzentrationen für eine Wirkdauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten extrapoliert (Anhang Tab. 13). Die Werte der für die jeweilige Anästhesiedauer erforderlichen effektiven Konzentrationen und die Intervallgrenzen des 95%-Konfidenzintervalls sind für alle Substanzen in Abb. 32 zusammengefasst.

Morpholinderivate mit Seitenketten in 2-Position: Um eine Leitungsanästhesie von zehnminütiger Dauer zu erzeugen, benötigt man von allen Substanzen keine signifikant höheren Konzentrationen als von der Referenzsubstanz. Für eine Anästhesiedauer = 30 Minuten werden, außer von OW 3, von allen Substanzen signifikant höhere Konzentrationen benötigt als von Fomo-HCl. Die Substanz OW 5 zeigte keine Wirkung.

In der Gruppe der *Morpholinderivate mit Seitenketten in 3-Position* ist für die Substanz OW 11 zu den berechneten Zeiten von 10, 20, 30 und 40 Minuten kein signifikanter Unterschied der effektiven Konzentrationen zu Fomo-HCl feststellbar. Von den beiden anderen Substanzen, OW 9 und OW 13, benötigt man zu allen vier Zeiten signifikant höhere Konzentrationen zur Erzielung des gleichen Effekts.

Ein ähnliches Bild ist bei den *anderen Morpholinderivaten* zu verzeichnen. Von den Substanzen OW 15 und OZ 9 benötigt man zu jeder berechneten Zeit erheblich höhere Konzentrationen als von Fomo-HCl. OW 15 und OZ 9 sind demnach als Leitungsanästhetika ungeeignet. Die Substanz Oe 100 verhält sich in ihrer Wirkstärke ähnlich wie Fomo-HCl.

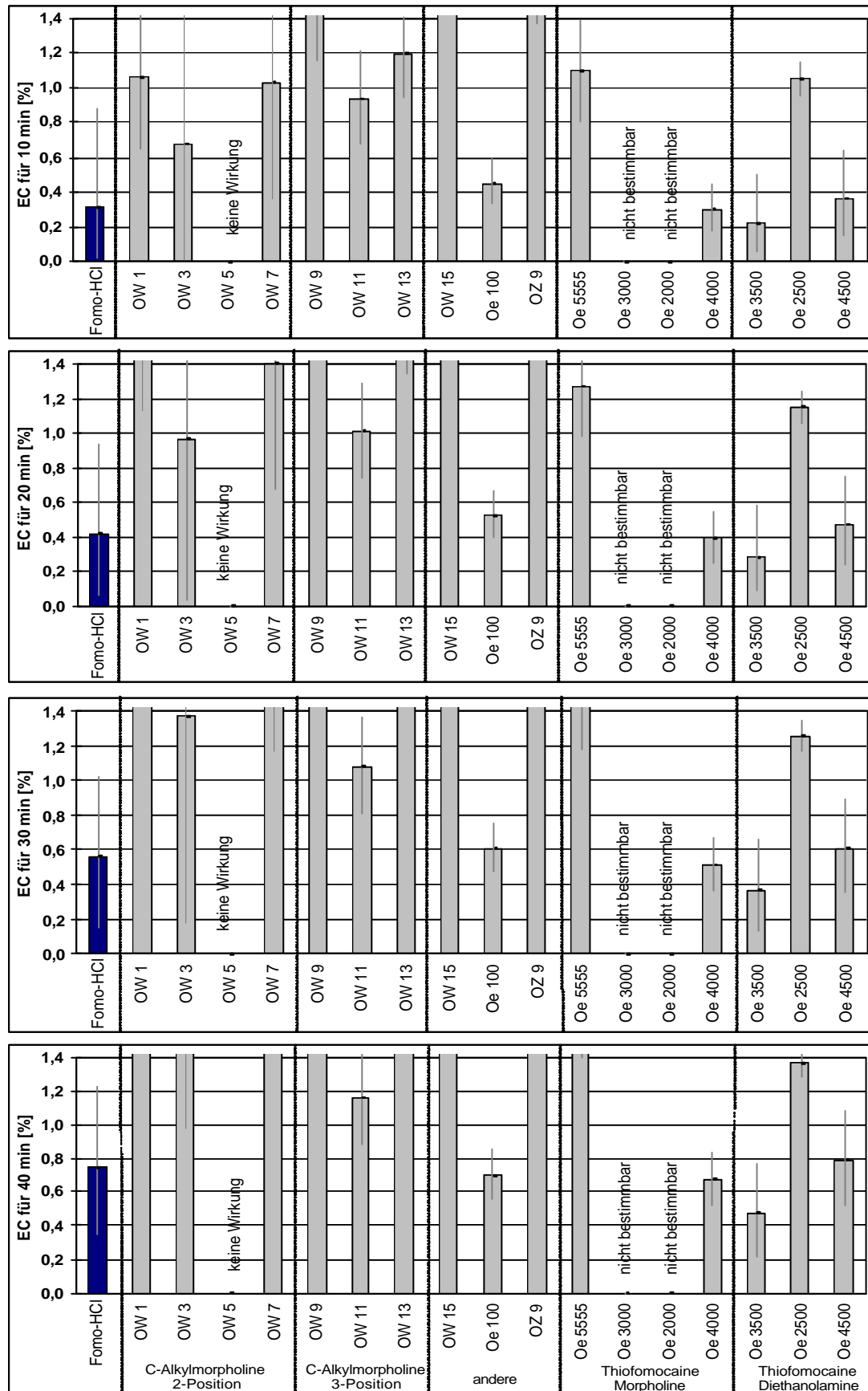


Abbildung 32: Vergleich der effektiven Konzentrationen (EC) mit Angabe des 95 %-Konfidenzintervalls für die Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 min am N. ischiadicus der Ratte für die Referenzsubstanz Fomo-HCl und die Morpholinderivate des Fomocain sowie die Thiofomocaine (gelöst in 0,5 %Tylose), n=6 pro Gruppe. (Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5 und OW 11 aus Fleck et al. (2004)).

Von der Substanz Oe 5555 aus der Gruppe der *Thiofomocaine mit Morpholinstruktur* benötigt man für eine Anästhesiedauer = 20 Minuten signifikant höhere Konzentrationen als von Fomo-HCl. Oe 4000 zeigt zu allen vier Zeiten eine ähnliche leitungsanästhetische Potenz wie Fomo-HCl. Für die Substanzen Oe 3000 und Oe 2000 konnten wegen der ungenügenden Löslichkeit keine effektiven Konzentrationen berechnet werden.

Bei den *Thiofomocainen mit Diethanolaminstruktur* besteht für die effektiven Konzentrationen der Substanzen Oe 3500 und Oe 4500 kein signifikanter Unterschied zur Referenzsubstanz, sie wirken ähnlich stark wie Fomo-HCl. Um einen mit Fomo-HCl vergleichbaren Effekt mit Oe 2500 hervorzurufen, werden jedoch für alle vier Zeiten signifikant höhere Konzentrationen benötigt.

5.4 Bestimmung der Parese nach Gabe verschiedener Fomocainzubereitungen und neuer Fomocainderivate

In wenigen Fällen der vorliegenden Untersuchungen konnte eine Parese als negativer Begleiteffekt zur Leitungsanästhesie beobachtet werden. Die mittlere Paresedauer wurde für die einzelnen verabreichten Konzentrationen bestimmt (Anhang Tab. 15). Da diese Lähmungserscheinungen jedoch nur sporadisch auftraten, wurde auf die Berechnung von effektiven Konzentrationen verzichtet.

Bei den verschiedenen Fomocainzubereitungen trat eine Parese nur bei der Fomo-Base (pH 5) auf. Loy (2003) beobachtete hierbei, dass die Paresedauer (Anhang Tab. 15) teilweise sogar erheblich über der Anästhesiedauer (Anhang Tab. 11) lag (bis zu ca. 4 Stunden).

Bei den in Tylose gelösten Morpholinderivaten mit einer Seitenkette in 2-Position lösten nur die Substanzen OW 1 und OW 3 eine Parese aus, welche jeweils die Leitungsanästhesie überdauerte. Mit steigender Konzentration nahm auch die Paresedauer zu. Bei OW 3 waren hierbei in allen drei Testkonzentrationen alle Versuchstiere betroffen. OW 1 dagegen bewirkte erst in höheren Konzentrationen (= 2 %) eine Parese.

In der Gruppe der Morpholinderivate mit Seitenketten in 3-Position bewirkten nur OW 9 und OW 11 eine Parese, die in beiden Fällen erst in höheren Konzentrationen auftrat. Bei OW 9 hielt die Parese nach Abklingen der

Leitungsanästhesie an. Bei OW 11 bildete sich die Parese nach etwa einer Stunde zurück, während die Leitungsanästhesie mehr als doppelt so lang wirkte.

Auch die anderen Morpholinderivate (OW 15, OZ 9, Oe 100) ließen keinen Zusammenhang zwischen leitungsanästhetischen Wirkungen und Auftreten einer Parese erkennen. Lediglich OW 15 bewirkte mit zunehmender Konzentration (= 4 %) motorische Ausfälle am anästhesierten Bein, wobei die Lähmung konzentrationsunabhängig etwa eine halbe Stunde andauerte, während die Dauer der Leitungsanästhesie um mehr als das Dreifache anstieg. OZ 9 und Oe 100 lösten keine Parese aus.

Oe 3000 ist die einzige Testsubstanz aus der Gruppe der Thiofomocaine mit Morpholinstruktur, welche vereinzelt eine Parese bewirkte. Diese trat ab einer Konzentration von 2 % auf und war nach ca. 15 Minuten beendet. Das entspricht in etwa der leitungsanästhetischen Wirkdauer.

Auch bei den Thiofomocainen mit Diethanolaminstruktur zeigten sich hinsichtlich der Parese keine einheitlichen Ergebnisse. Paretische Effekte wurden bei Oe 3500 oberhalb 1 % und bei Oe 2500 oberhalb 1,5 % hervorgerufen. Die Paresedauer lag bei Oe 3500 zunächst in der Zeitspanne der Leitungsanästhesie, überschritt diese aber in höheren Konzentrationen (2 %). Oe 2500 zeigte eine kurze Parese von ca. 25 Minuten bei 1,5 %, die bei 2 % nicht mehr nachweisbar war. Bei Oe 4500 zeigte sich keine Parese. Langzeitbeeinträchtigungen im Sinne von bleibenden sensiblen oder motorischen Ausfällen des N. ischiadicus traten bei keiner der Testsubstanzen auf.

5.5 Bestimmung der Toxizität der neuen Fomocainderivate

Die Bestimmung der Toxizität erfolgte anhand der approximativen LD₅₀ nach der in Kap. 4.5 beschriebenen Methode von Miller und Tainter (1944). Die berechneten Dosen und die jeweils dazugehörigen Streuungen sind in Abb. 33 sowie im Anhang (Tab. 17) ersichtlich. Je höher eine Säule im Diagramm ist, umso höhere Dosierungen wurden benötigt, um letale Effekte hervorzurufen. Demnach bedeutet ein niedriger Wert eine hohe Toxizität der entsprechenden Substanz.

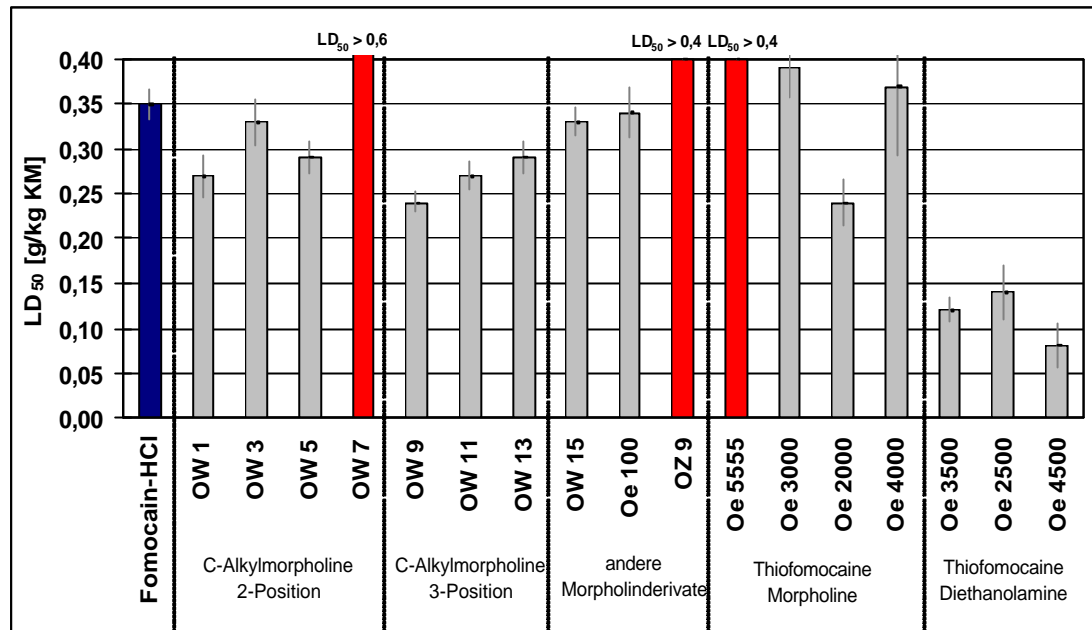


Abbildung 33: Vergleich der LD₅₀ nach i.p. Injektion an der Ratte für die Morpholinderivate des Fomocain (Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5, OW 9 und OW 11 aus Fleck et al. (2004)) sowie der Thiofomocaine mit der Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl). Angabe der LD₅₀ ± Streuung; n = 6 pro Konzentration; 3 - 4 Konzentrationen pro Substanz.

Die Morpholinderivate mit Seitenketten in 2-Position sind mit Ausnahme der Substanz OW 7 ähnlich toxisch wie die Referenzsubstanz Fomo-HCl. OW 7 weist hingegen nur eine sehr schwache Toxizität auf. In den getesteten Dosierungen bis 0,6 g/kg KM traten keine toxischen Effekte auf, keines der Versuchstiere starb. Weitere Untersuchungen zur Bestimmung der LD₅₀ erfolgten aus Gründen des Tierschutzes nicht. Folglich ist die LD₅₀ von OW 7 größer als 0,6 g/kg KM. Damit ist die Substanz geringer toxisch als Fomo-HCl.

Die LD₅₀ der Morpholinderivate mit Seitenketten in 3-Position liegen im Bereich von Fomo-HCl.

Die Substanzen OW 15 und Oe 100 unterscheiden sich in ihrer Toxizität nicht von Fomo-HCl. Die LD₅₀ von OZ 9 liegt über 0,4 g/kg KM. Diese Substanz ist weniger toxisch als die Referenzsubstanz.

Gleiches gilt für die Substanz Oe 5555 aus der Gruppe der Thiofomocaine mit Morpholinstruktur. Ihre LD₅₀ beträgt ebenso mehr als 0,4 g/kg KM. Eine genauere Untersuchung von Oe 5555 und OZ 9 wurde aus Tierschutzgründen nicht unternommen. Die anderen Substanzen in dieser

Gruppe, Oe 3000, Oe 2000 und Oe 4000, verhalten sich hinsichtlich ihrer toxischen Wirkungen ähnlich wie Fomo-HCl.

In der Testgruppe der Thiofomocaine mit Diethanolaminstruktur (Oe 3500, Oe 2500 und Oe 4500) traten bereits nach der Hälfte der Dosis von Fomo-HCl letale Effekte auf.

5.6 Einfluss der Lösungsvermittler Tylose und Propylenglycol auf die lokalanästhetische Wirksamkeit und die Toxizität einiger Fomocainderivate

Um Rückschlüsse über den Einfluss der Lösungsvermittler Tylose und Propylenglycol (PG) auf die Wirksamkeit bestimmter Fomocainderivate als Oberflächen- bzw. Leitungsanästhetikum ziehen zu können, wurden effektive Konzentrationen miteinander verglichen. Hierfür wurden die effektiven Konzentrationen für 10, 20, 30 und 40 Minuten jeder Substanz unter Verwendung von 50 % PG berechnet und den effektiven Konzentrationen der in 0,5 % Tylose gelösten Substanzen gegenübergestellt. Der Wert für 0,5 % Tylose wurde als Referenzwert festgelegt.

Die effektiven Konzentrationen der getesteten Fomocainderivate zur Herbeiführung einer Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte sind in Abb. 34 sowie im Anhang (Tab. 9 - 10) dargestellt.

Die Substanzen OW 7, Oe 100, Oe 2000 und Oe 4500 sind zu allen vier berechneten Zeiten, gelöst in Tylose stärker wirksam als in Propylenglycol gelöst. Von denen in Propylenglycol gelösten Substanzen werden signifikant höhere effektive Konzentrationen zur Erzielung der gleichen Anästhesiedauer benötigt. Tylose begünstigt ebenfalls die Wirksamkeit der Substanzen Oe 3000 und Oe 3500 (20, 30 und 40 Minuten Anästhesiedauer). Lediglich bei der Substanz OZ 9 werden bei Verwendung von Propylenglycol als Lösungsvermittler für eine Anästhesiedauer von 20, 30 und 40 Minuten signifikant geringere effektive Konzentrationen benötigt, als in Tylose gelöst. Die anderen Substanzen (OW 13, OW 15, Oe 5555, Oe 4000 und Oe 2500) weisen unabhängig vom Lösungsvermittler gleiche effektive Konzentrationen zur Erzielung der extrapolierten Anästhesiedauer auf.

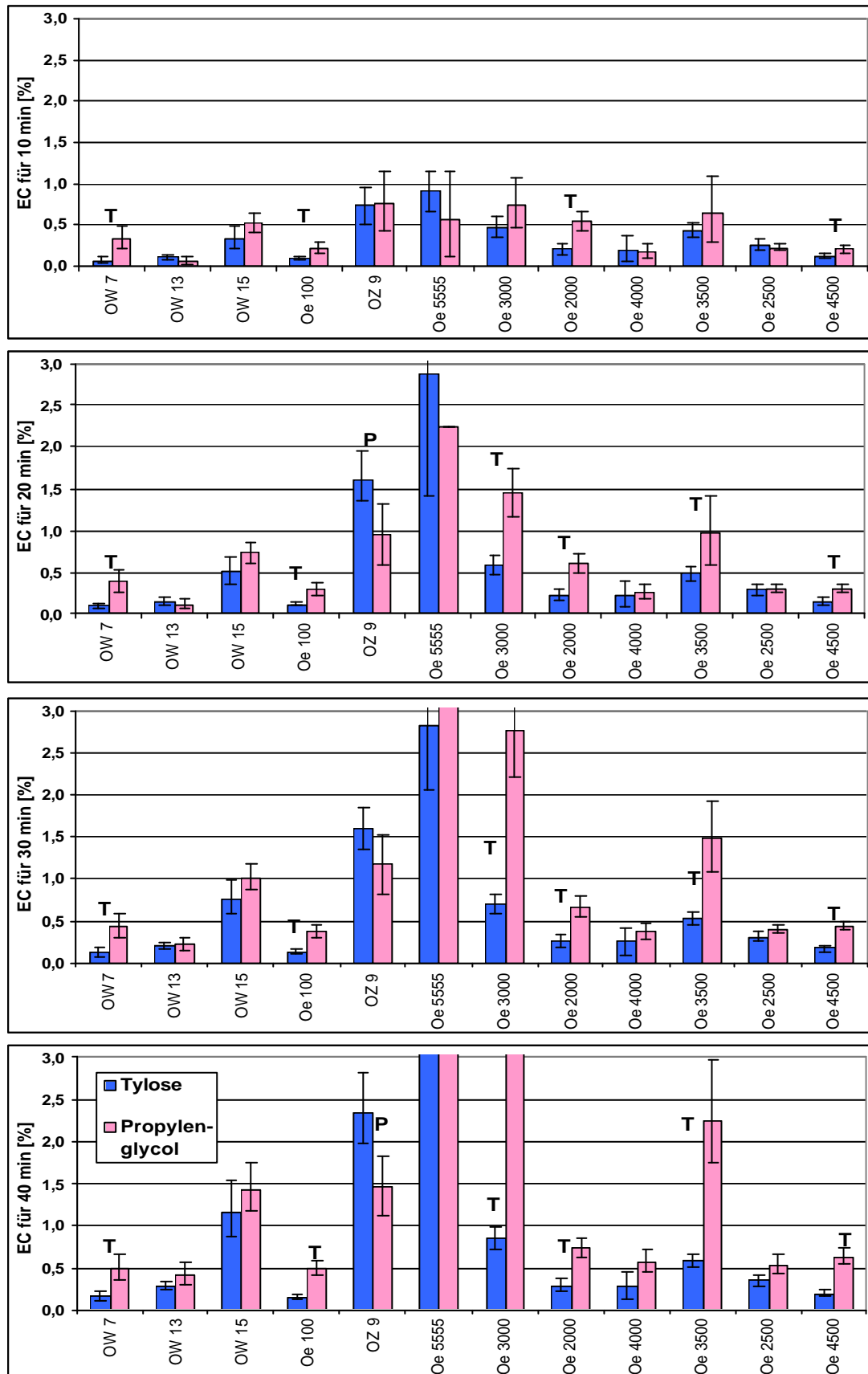


Abbildung 34: Einfluss des Lösungsvermittlers Tylose (T) bzw. Propylenglycol (P) auf die effektiven Konzentrationen (EC) verschiedener Fomocainderivate für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten bei der Oberflächenanästhesie der Cornea der Ratte. Angabe der effektiven Konzentrationen mit 95%-Konfidenzintervall. $n=6$ pro Gruppe. T bzw. P = signifikant geringere EC ($p \leq 0,05$) der entsprechenden Substanz bei Verwendung des Lösungsvermittlers Tylose bzw. Propylenglycol.

Der Einfluss des Lösungsvermittlers wurde auch bezüglich der Leitungsanästhesie untersucht. In Abb. 35 sind die effektiven Konzentrationen für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten am N. ischiadicus der Ratte für jedes der getesteten Fomocainderivate, gelöst in Tylose und PG, gegenübergestellt (siehe auch Anhang Tab. 13 - 14).

Die Lösung in Propylenglycol verstärkt die Lokalanästhesie nach Gabe der Substanz OW 13 (10 - 40 Minuten). Auch für OW 15 erwies sich Propylenglycol als besser geeigneter Lösungsvermittler (30, 40 Minuten). Gleiches gilt für die Substanz Oe 100. Sie benötigt, gelöst in Propylenglycol, signifikant geringere effektive Konzentrationen zur Herbeiführung einer Anästhesie von 10, 20 und 30 Minuten, als in Tylose gelöst. Umgekehrt verhält es sich bei den Thiofomocainen Oe 4000 und Oe 3500, welche in Tylose gelöst zu allen vier Zeiten signifikant besser wirken. Für die übrigen Substanzen (OW 7, OZ 9, Oe 5555, Oe 2500 und Oe 4500) ist kein Einfluss des Lösungsvermittlers auf die Dauer der Leitungsanästhesie feststellbar. Für Oe 3000 und Oe 2000 konnten keine effektiven Konzentrationen für Propylenglycol berechnet werden. Daher war für diese beiden Substanzen auch kein Vergleich zwischen Tylose und Propylenglycol möglich.

Auch unter dem Einfluss des Lösungsvermittlers Propylenglycol äußerten sich im Versuch zur Leitungsanästhesie vereinzelt Lähmungserscheinungen (Tab. 16). Diese traten jedoch noch seltener in Erscheinung als bei den in Tylose gelösten Substanzen (Tab. 15). Weder OW 7 (C-Alkylmorpholin mit Seitenkette in 2-Position) noch OW 13 (C-Alkylmorpholin mit Seitenkette in 3-Position) oder die anderen Morpholinderivate (OW 15, Oe 100, OZ 9) zeigten im Rahmen der Leitungsanästhesie Lähmungserscheinungen.

Von den Thiofomocainen mit Morpholinstruktur bewirkte Oe 3000 in 3%-iger Konzentration und Oe 2000 in Konzentrationen = 2,5 % eine Parese, wobei jeweils nur bei der Hälfte der Tiere eine Parese auftrat. Während bei Oe 3000 der paretische Effekt nach Abklingen der Leitungsanästhesie noch ca. eine halbe Stunde andauerte, war er dagegen bei Oe 2000 nur von kurzer Dauer.

Bei den Thiofomocainen mit Diethanolaminstruktur trat einzig bei der Substanz Oe 3500 eine Parese auf. Es waren zwei Tiere betroffen.

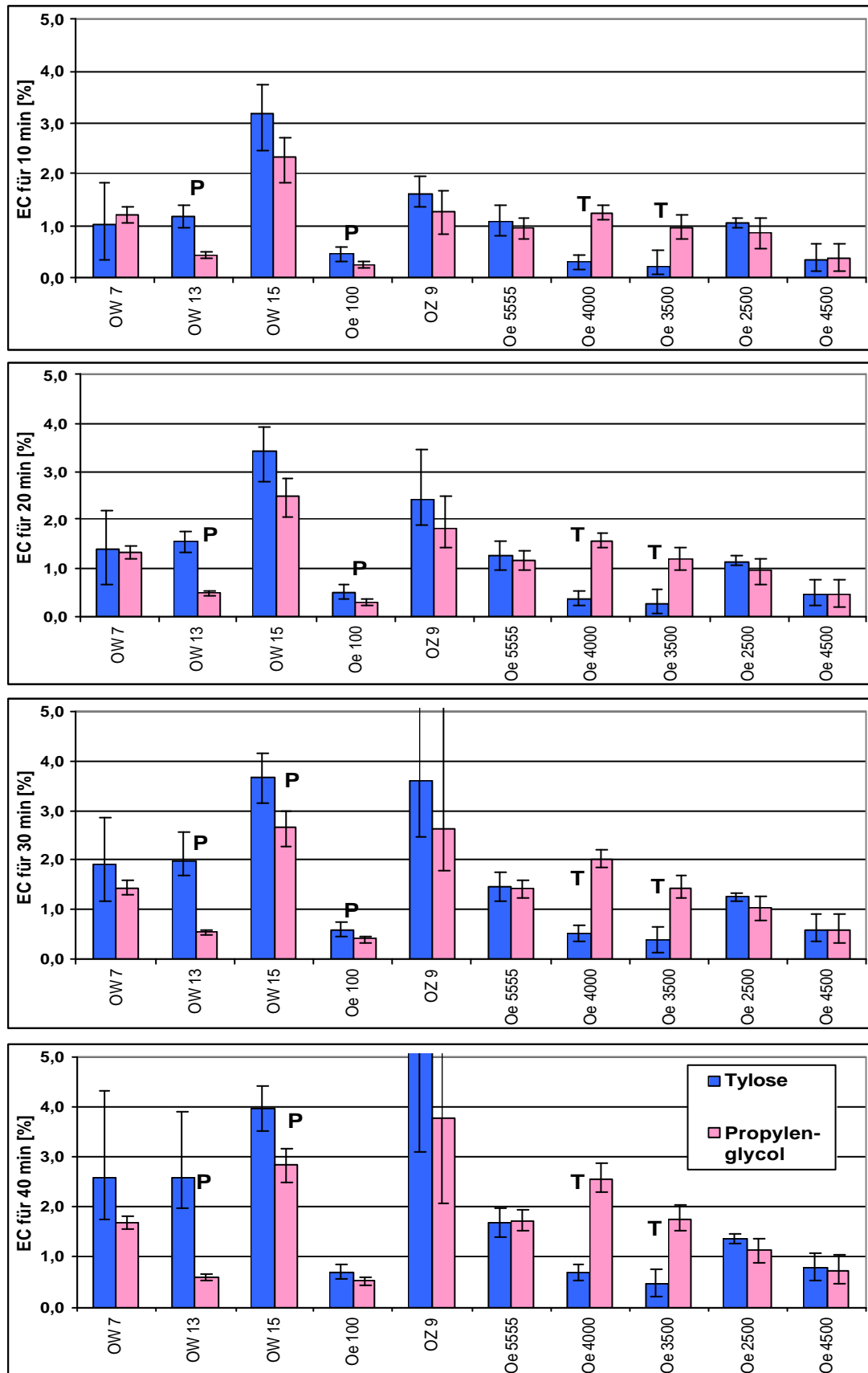


Abbildung 35: Einfluss des Lösungsvermittlers Tylose (T) bzw. Propylenglycol (P) auf die effektiven Konzentrationen (EC) verschiedener Fomocainderivate für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten bei der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte. Angabe der effektiven Konzentrationen mit 95%-Konfidenzintervall. $n=6$ pro Gruppe. T bzw. P = signifikant geringere EC ($p \leq 0,05$) der entsprechenden Substanz bei Verwendung des Lösungsvermittlers Tylose bzw. Propylenglycol.

Zur Ermittlung des Einflusses der Lösungsvermittler auf die Toxizität der Fomocainderivate wurde für jede Substanz die LD_{50} unter Verwendung von 0,5 % Tylose bzw. 50 % Propylenglycol als Lösungsvermittler miteinander verglichen (Abb. 36).

Die Substanzen Oe 100, Oe 3000 und Oe 4000 sind in Tylose gelöst weniger toxisch als in Propylenglycol. Die LD_{50} dieser Substanzen in Tylose ist signifikant höher als in Propylenglycol, d. h. sie benötigen im Lösungsvermittler Tylose eine höhere Dosis als in Propylenglycol gelöst, um bestimmte toxische Effekte hervorzurufen. Einzig für die Substanz Oe 4500 ist Propylenglycol als Lösungsvermittler besser geeignet als Tylose. Hier ist die LD_{50} dieser Substanz in Tylose signifikant geringer als in Propylenglycol. Die restlichen Substanzen (OW 7, OW 13, OW 15, OZ 9, Oe 5555, Oe 2000, Oe 3500 und Oe 2500) zeigen für beide Lösungsvermittler annähernd eine gleich starke Toxizität.

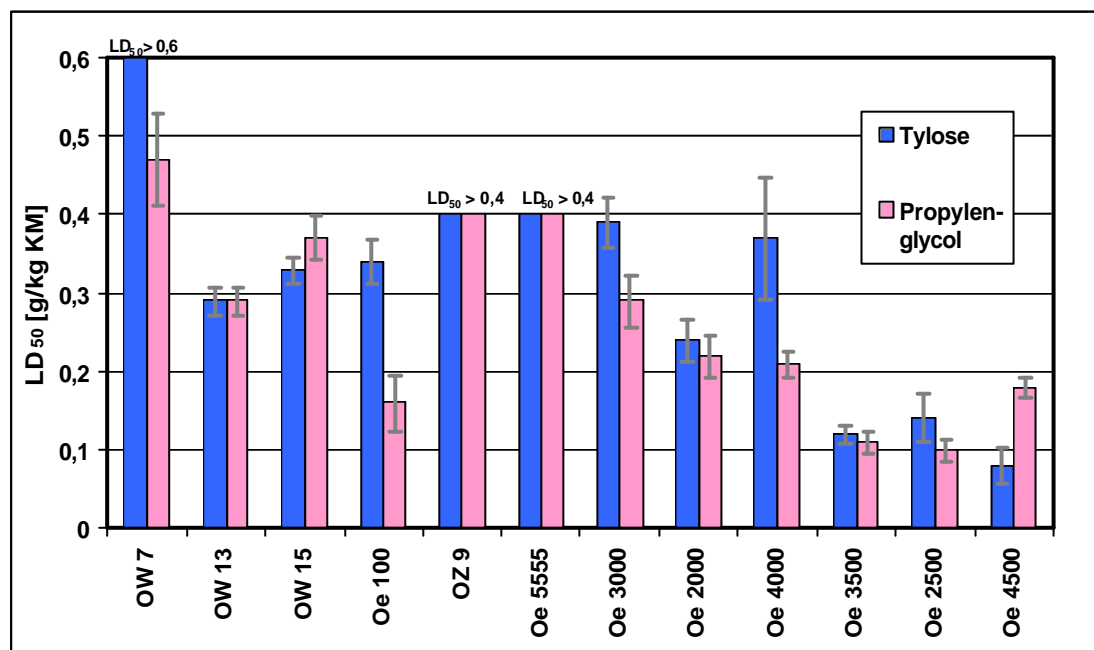


Abbildung 36: Einfluss der Lösungsvermittler Tylose und Propylenglycol auf die LD_{50} nach i.p. Applikation an der Ratte für verschiedene Fomocainderivate. Methode nach Miller und Tainter (1944). Angabe der $LD_{50} \pm$ Streuung. $n = 6$ pro Konzentration. 3 - 4 Konzentrationen pro Substanz.

6 Diskussion

Die Weiterentwicklung von Lokalanästhetika, insbesondere auch des Fomocain, wird schon seit vielen Jahren betrieben. Im Hinblick auf die Verminderung von Nebenwirkungen ist es sinnvoll, nach besseren Substanzen zu suchen. Besondere Beachtung gilt hierbei der Relation zwischen Wirkung und Toxizität. In der vorliegenden Arbeit wurden 12 neue Fomocainderivate auf ihre oberflächen- bzw. leitungsanästhetische Wirkung und ihre Toxizität untersucht. Zusätzlich wurde der Einfluss der Lösungsvermittler 0,5 % Tylose und 50 % Propylenglycol auf die Wirkung der neuen Fomocainabkömmlinge ermittelt.

6.1 Fomocain

Erwartungsgemäß wurde die sehr gute Eignung von Fomocain als Oberflächenanästhetikum bestätigt (Nieschulz et al. 1958, Oelschläger et al. 1968, Fleck et al. 2001, Fleck et al. 2003, Lupp et al. 2006). Vom Fomocain-Hydrochlorid benötigte man, um eine Anästhesiedauer von 30 Minuten an der Cornea der Ratte zu erzielen, eine Konzentration von nur ca. 0,5 % (Anhang Tab. 9). Im Vergleich dazu wird unter Verwendung des Oberflächenanästhetikums Tetracain, das häufig als Referenzsubstanz herangezogen wird, selbst in einer Konzentration von 1 % nur eine Wirkdauer von unter einer halben Stunde erzielt (Loy 2003). Die starke oberflächenanästhetische Wirkung des Fomocain ist in erster Linie auf die hohe Lipophilie der Substanz zurückzuführen. Takacs-Novak et al. (1992) untersuchten die Verteilung von Verbindungen vom Typ der Aminoalkylaryl-Phenylether, also auch von Fomocain, im System n-Octanol/Wasser. Sie berechneten für Fomocain ein $\lg P$ von 3,8 und zeigten damit, dass Fomocain eine hohe Lipophilie besitzt. Man nimmt an, dass dadurch Nervmembranen leichter durchdrungen werden können und sich der Wirkstoff in diesen anreichert (Koch 1970, Temple und Schesmer 1978). Langzeitbeeinträchtigungen an der Cornea nach Applikation von Fomocain, im Sinne eines irreversiblen Verlustes des Cornealreflexes, wie dies bei Loy (2003) und Nieschulz et al. (1958) beschrieben wird, traten in unseren Untersuchungen mit Fomocain-Hydrochlorid und Fomocain-Base (pH 7) nicht auf. Die gute Gewebeverträglichkeit des Fomocain, die bereits in früheren

Arbeiten von Blume und Oelschläger (1981) beobachtet wurde, kann durch die vorliegende Arbeit bestätigt werden. Es wurden keine Nekrosen an der Cornea oder an der Einstichstelle nach Applikation am N. ischiadicus beobachtet.

Als Leitungsanästhetikum ist Fomocain erst in höheren Dosierungen wirksam, wobei die maximal erreichbaren Anästhesiezeiten meist unter einer Stunde lagen (Anhang Tab. 11). Während bei unserer Untersuchung des Fomocain-Hydrochlorids keine Parese auftrat, verursachte die Fomocain-Base (pH 5) bei allen Versuchstieren neben der Lokalanästhesie eine Parese des N. ischiadicus (Anhang Tab. 15). Loy (2003) berichtet, dass die Paresedauer des Fomocain die Anästhesiedauer teilweise erheblich überschritten hat. Bei einer Konzentration von 4% beschreiben Tschritter und Kämena (2000) für Fomocain sogar eine Parese, die über 48 Stunden anhielt. Auch Nieschulz et al. (1958) beobachteten schon in einer Konzentration von 0,25 % lang andauernde Paresen unter Verwendung von Fomocain als Leitungsanästhetikum. Eine Parese tritt auf, sobald das Lokalanästhetikum in die äußeren Bereiche des N. ischiadicus vorgedrungen ist und dort die myelinisierten, motorischen A-Fasern blockiert. Eine Anästhesie tritt dann auf, wenn die weiter zentral liegenden, sensiblen, nicht-myelinisierten C-Fasern blockiert werden (Catterall und Mackie 1998). Durch die hohe Lipophilie könnten auch dickere, motorische Fasern penetriert und blockiert worden sein, was die Ausbildung einer Parese hervorrufen würde, wie dies vor allem in höheren Konzentrationen beobachtet wurde. Möglicherweise kommt auch dem geringen Trübungs-pH-Wert des Fomocain ($\text{pH}_{\text{Trüb}} = 6,88$) eine Bedeutung zu. In höheren Konzentrationen tritt eine ölige Ausfällung von Fomocain im Gewebe auf, die zu einem Depoteffekt führt (Seeling 1996). Ein schneller Abtransport des Fomocain ist aufgrund seiner hohen Gewebeaffinität nicht zu erwarten. Auch eine Inaktivierung am Applikationsort durch enzymatische Spaltung tritt nicht auf (Oelschläger et al. 1971). Als mögliche Nebenwirkungen nach subcutaner Injektion von Fomocain werden von v. Bruchhausen (1999) lokale Ödeme und Nekrosebildung mit meist starker leukozytärer Infiltration beschrieben, weshalb er die Anwendung als Infiltrations- und Leitungsanästhetikum ablehnt. In unseren Versuchen waren jedoch keine

Langzeitbeeinträchtigungen nach der Applikation von Fomocain-Hydrochlorid am N. ischiadicus aufgetreten.

Die Beurteilung der Toxizität des Fomocain erfolgte anhand der approximativen LD₅₀ (Miller und Tainter 1944) nach intraperitonealer Applikation an der Ratte. Fomocain erwies sich als wenig toxisch. Für das Fomocain-Hydrochlorid wurde von uns eine verhältnismäßig hohe LD₅₀ von 0,35 g/kg KM ermittelt. Im Vergleich dazu werden für Procain 0,17 g/kg KM und für Lidocain sogar nur 0,12 g/kg KM als LD₅₀ angegeben (Oelschläger 2000). Als Ursache für die geringe Toxizität des Fomocain werden mehrere Gründe diskutiert. Zum einen stellte man durch zahlreiche Untersuchungen empirisch fest, dass Morpholinderivate im Vergleich zu anderen lokalanästhetisch wirksamen Verbindungen weniger toxisch sind. Daher vermutet man, dass der Morpholinring, den das Fomocainmolekül als basische Komponente trägt, die hohe LD₅₀ bedingen könnte (Oelschläger 2000). Zum anderen könnte aber auch die hohe Plasmaeiweißbindung des Fomocain von 98 % (Nachev 1982) für die gute Verträglichkeit verantwortlich sein.

6.2 Verschiedene Fomocainzubereitungen

Im Vorfeld sollte untersucht werden, welchen Einfluss unterschiedliche galenische Zubereitungen von Fomocain auf die Dauer einer lokalen Anästhesie der Cornea und des N. ischiadicus der Ratte, sowie auf die LD₅₀ haben. Fomocain-Hydrochlorid und die Fomocain-Base (pH 7) wurden in dieser Arbeit untersucht und mit der Fomocain-Base (pH 5; Angaben aus Loy (2003)) sowie mit dem Fomocain-Cyclodextrin (Angaben aus Fleck et al. (2004)) verglichen.

Für die Auslösung einer Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte erwies sich die Fomocain-Base (pH 5) als am stärksten wirksam. Diese Darreichungsform benötigte für eine Anästhesiedauer von 30 Minuten die niedrigste Konzentration (Abb. 17, Anhang Tab. 9). Nach Gabe von höher konzentrierten Lösungen (\approx 1 %) der Fomocain-Base (pH 5) wurden jedoch Gewebeschädigungen am Auge beschrieben (Tschrutter und Kämena 2000). Das von uns untersuchte Fomocain-Hydrochlorid verursachte im getesteten Konzentrationsbereich (0,5 % bis 2 %) keine Langzeitbeeinträchtigungen am

Auge der Versuchstiere, war aber trotzdem in der Lage, in relativ geringen Konzentrationen eine in der Praxis nutzbare Oberflächenanästhesie zu erzeugen. Eine ähnliche oberflächenanästhetische Wirkstärke wie das Hydrochlorid besitzt Fomocain als Cyclodextrin-Einschlussverbindung. Auffallend für diese Zubereitung sind jedoch die beträchtlich großen Konfidenzintervalle. Cyclodextrine verbessern die Löslichkeit von in Wasser schwer löslichen Arzneistoffen und erhöhen damit die Bioverfügbarkeit. In Abhängigkeit der Komplexstabilität kommt es infolge der verlangsamten Freigabe des Wirkstoffes, im Sinne eines veränderten pharmakokinetischen Profils, zu einer Verlängerung der Wirkdauer (Wennek-Klose 2005). Wenn im Versuch zur Oberflächenanästhesie durch eine im Einzelfall unzureichende Spülung der Cornea nach Aufbringen des Lokalanästhetikums Reste des Fomocain-Cyclodextrins auf der Hornhaut verblieben sind, würde dies aufgrund der langsamen Freigabe des Wirkstoffes aus dem Cyclodextrin eine lang dauernde Anästhesie bzw. die relativ große Streuung der Anästhesiedauer begründen. Die Steuerbarkeit der Oberflächenanästhesie nach Applikation von Fomocain als Cyclodextrin-Einschlussverbindung könnte somit in praxi Nachteile mit sich bringen.

Soehring et al. (1959) berichten über einen Anstieg der Anästhesiedauer bei Erhöhung des pH-Wertes einer Lösung eines Lokalanästhetikums. Nach Applikation einer 1%-igen Pantocainlösung in pH 6,9 (anstatt zuvor in pH 5,3) stieg die Dauer der Corneaanästhesie am Kaninchen um den Faktor 1,6. In unseren Untersuchungen zeigte jedoch die Fomocain-Base (pH 7) an der Ratte schwächere Wirkungen als Oberflächen- bzw. Leitungsanästhetikum. Von der Fomocain-Base (pH 5) wurden signifikant geringere effektive Konzentrationen benötigt, als von der Fomocain-Base (pH 7), um eine gleich lange Anästhesiedauer an der Cornea bzw. am N. ischiadicus zu erzeugen (Anhang Tab. 9, 13). Bedingt durch den pKa-Wert von 7,1 liegt in der Zubereitungsform des Fomocain (pH 7) ein größerer Anteil als ungeladene, freie Base vor, als bei Fomo-Base (pH 5). Die freie Base ist zwar lipidlöslich und kann Biomembranen besser penetrieren, um aber am Rezeptor wirken zu können, muss der Wirkstoff dissoziiert sein, denn nur als Kation kann der Na⁺-Kanal blockiert werden (Biel 2005). Bei der Fomocain-Base, deren Injektionslösung einen pH-Wert von 5 besaß, liegen höhere Anteile in der

dissoziierten Wirkform vor. Offensichtlich ist das Verhältnis von ungeladenen zu geladenen Anteilen des Wirkstoffes Fomocain in dieser Darreichungsform günstiger, so dass eine stärkere Wirkung erzielt werden konnte. Dies ging jedoch auch mit einer Erhöhung der Toxizität einher (Anhang Tab. 17). Auch wurden nach Applikation der Fomocain-Base (pH 5) am N. ischiadicus Paresen beschrieben (Kämena und Tschritter 2000, Loy 2003). Problematisch bei der Zubereitung der Fomocain-Base in neutralem pH-Bereich könnte die schlechte Löslichkeit in Wasser sein, die ebenso zu der eingetretenen Wirkungsverminderung geführt haben könnte. Aufgrund des niedrigen Trübungs-pH-Wertes kommt es durch die pH-Wert-Erhöhung zu einem Auskristallisieren der Base am Applikationsort. Die Fomocain-Base (pH 7) ist daher für einen klinischen Einsatz als Lokalanästhetikum ungeeignet.

Das Hydrochlorid ist das saure Salz der Base und gut wasserlöslich (Catterall und Mackie 1998). Die Bildung wasserlöslicher Salze ist eine bewährte Methode, um schwer lösliche Arzneistoffe als wässrige Zubereitungen zur Verfügung zu stellen. Mit dem Fomocain-Hydrochlorid konnten im getesteten Bereich (0,5 % bis 1,5 %) die längsten Anästhesiezeiten am N. ischiadicus der Ratte erzeugt werden. Paresen traten nach Verabreichung des Hydrochlorids nicht auf. Es zeigte sich also, dass hier die dünneren, schmerzleitenden C-Fasern bevorzugt blockiert wurden. Zwar müssten die motorischen Fasern wegen ihrer peripheren Lage vor den sensiblen Faseranteilen blockiert werden, in der Praxis hat sich aber gezeigt, dass die Schmerzwahrnehmung die erste Sinnesqualität ist, die durch die Einwirkung von Lokalanästhetika ausgeschaltet wird. Motorische Funktionen werden erst später blockiert (Catterall und Mackie 1998). Die Autoren führen dies auch darauf zurück, dass die sensiblen Fasern einen kürzeren Internodalabstand aufweisen als die dickeren, myelinisierten motorischen Fasern vom Typ A. In unseren Untersuchungen konnten mit Fomocain-Hydrochlorid in relativ niedrigen Konzentrationen für die Praxis relevante Anästhesiezeiten am N. ischiadicus erzeugt werden. Gleiches gilt für das Fomocain-Cyclodextrin. Signifikant schlechtere Wirkungen zeigte Fomocain als Base, sowohl mit pH 5, als auch mit pH 7. Die beiden

letztgenannten Zubereitungsformen eignen sich nicht für die Leitungsanästhesie.

Bei Betrachtung der Toxizität der vier verschiedenen Fomocainzubereitungen fällt auf, dass die Fomocain-Base (pH 5) die höchste Toxizität ($LD_{50} = 0,2 \text{ g/kg KM}$) besitzt. Dagegen ist die Fomocain-Base (pH 7) nur sehr schwach toxisch (ca. $0,9 \text{ g/kg KM}$). Die LD_{50} des Fomocain-Hydrochlorids und des Fomocain-Cyclodextrins liegen im mittleren Bereich zwischen $0,35$ und $0,55 \text{ g/kg KM}$.

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen der anästhetischen Wirkung an der Cornea bzw. am N. ischiadicus sowie der LD_{50} schlussfolgern, dass bei Fomocain-Hydrochlorid das günstigste Verhältnis zwischen Wirkung und Toxizität vorliegt. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde die Verwendung dieser Zubereitung als Referenzsubstanz für die Untersuchungen der Fomocainderivate herangezogen.

6.3 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

In die Suche nach besseren Lokalanästhetika wurden 12 neue Derivate der Muttersubstanz Fomocain einbezogen und auf ihre lokalanästhetische Wirkung untersucht. Weiterhin sollte herausgefunden werden, ob das Verhältnis zwischen lokalanästhetischer Wirkung und Toxizität durch die Derivatisierung verbessert und somit das Auftreten von Nebenwirkungen verringert werden kann.

Alle Substanzen wurden zunächst in $0,5 \text{ \%}$ Tylose gelöst (siehe Kap. 4.3.1). In Vorversuchen stellte sich heraus, dass Tylose keine lokalanästhetische Wirkung hervorruft. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die aufgetretenen Wirkungen durch die jeweilige Testsubstanz hervorgerufen wurden.

6.3.1 C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten

Fomocain wurde unter anderem verändert durch Einfügung von *unverzweigten* Alkyl-Ketten in 2- und 3-Position am Morpholinring. Die Substanzen OW 1, OW 3, OW 5 und OW 7 tragen Seitenketten in 2-Position. Die Substanzen OW 9, OW 11 und OW 13 besitzen Seitenketten in 3-Position. Die Derivate bilden homologe Reihen, die sich durch die

Kettenlänge unterscheiden. Da sich in homologen Reihen eine Korrelation von Wirkung und physikochemischen Konstanten herausstellen kann (Büchi und Perlia 1960a, b), sollte untersucht werden, ob die Einführung von Alkyl-Gruppen in Form von Seitenketten eine Wirkungsoptimierung hervorruft.

In den Versuchen zur Bestimmung der Oberflächenanästhesie zeigte sich, dass mit steigender Anzahl der C-Atome der Seitenketten, sowohl in 2- als auch in 3-Position, eine Verbesserung der Wirkung erzielt wurde. Das wird deutlich aufgrund der geringer werdenden effektiven Konzentrationen (Abb. 26). Benötigt man für eine 10-minütige Anästhesiedauer an der Cornea von OW 1 (C₁-Substituent, 2-Position) eine ca. 0,4%-ige Zubereitung, braucht man von OW 7 (C₄-Substituent, 2-Position) nur ca. 0,1 %. Ähnliche Veränderungen sieht man bei OW 9 und OW 13. Um die Cornea der Ratte für 10 Minuten zu anästhesieren, müssen von OW 9 (C₁-Substituent, 3-Position) ca. 0,5 %, von OW 13 (C₃-Substituent, 3-Position) dagegen nur ca. 0,1 % angewendet werden. Die Position der Substituenten scheint hingegen keinen Einfluss auf die Dosis-Wirkungsbeziehung zu haben. OW 7 und OW 13 wirken sogar signifikant besser oberflächenanästhetisch als Fomocain, während die restlichen Derivate in gleichen Konzentrationsbereichen wie Fomocain wirken und daher diesbezüglich keinen Vorteil gegenüber Fomocain haben (Abb. 26). Der von Büchi und Perlia (1960a) erkannte Zusammenhang zwischen der Einführung längerer Alkyl-Gruppen in Form von Seitenketten und einer Wirkungsverstärkung konnte somit bestätigt werden. Wie in Tab. 5 ersichtlich, sind mit wachsenden Kettenlängen der Alkyl-Substituenten höhere IgP-Werte zu verzeichnen. Der IgP stellt die Verteilung einer Verbindung in einem n-Octanol/Wasser-Gemisch dar und dient als Parameter für die Lipophilie. Ein großer IgP bedeutet eine hohe Lipophilie. Die durch die Seitenketten gesteigerte Lipophilie könnte möglicherweise eine stärkere Rezeptoraffinität der Lokalanästhetikamoleküle hervorrufen und damit die Verbesserung der Wirkung begründen (Catterall und Mackie 1998). Bei OW 7 (IgP = 4,80) wird deutlich sichtbar, dass sich die Anästhesiedauer im Verhältnis zur applizierten Menge des Wirkstoffes verlängert, wobei ein Plateau, eine maximale Anästhesiedauer von ca. 110 Minuten, erreicht wird. Bei weiterer Erhöhung der Konzentration am Wirkort wird keine Verbesserung der

Wirksamkeit erzielt (Anhang Tab. 7). Dagegen ist jedoch mit einer weiter steigenden lokalen Reizwirkung zu rechnen (Steinke 1990).

Bezüglich der Leitungsanästhesie konnten dagegen keine klaren Struktur-Wirkungsbeziehungen festgestellt werden. Bei der Testung am N. ischiadicus hat im Gegensatz zur Oberflächenanästhesie keines der Morpholinderivate mit einer *unverzweigten* Seitenkette überzeugt. Keine der Testsubstanzen war signifikant besser wirksam als Fomocain (Abb. 32). Eine Zunahme der Wirksamkeit bei Kettenverlängerung und gleichzeitiger Steigerung der Lipophilie, wie sie bei den Ergebnissen zur Oberflächenanästhesie gezeigt werden konnte, trat bei der Leitungsanästhesie nicht auf. Die Konfidenzintervalle der effektiven Konzentrationen von OW 3 und OW 11 überschneiden sich in allen Fällen (10, 20, 30 und 40 Minuten) mit denen von Fomocain. Beide Substanzen erreichen somit eine vergleichbare leitungsanästhetische Wirkung wie die Muttersubstanz. OW 1, OW 7, OW 9 und OW 13 zeigen eine signifikant schlechtere leitungsanästhetische Wirkung, während sich bei OW 5 für keine der getesteten Konzentrationen eine Wirkung ergab.

Bei den Versuchen zur Leitungsanästhesie konnten vereinzelte Paresen beobachtet werden. Es lösten jedoch nur die Substanzen mit den kürzeren Substituenten (OW 1, OW 3, OW 9, OW 11) eine Parese aus (Anhang Tab. 15). Ab einer Seitenkette von drei C-Atomen (OW 5, OW 7, OW 13) traten keine motorischen Ausfälle auf. Bei Fomocain als Base (pH 5) wurde in den Untersuchungen von Loy (2003) eine Parese in allen drei getesteten Konzentrationen nachgewiesen, wobei die Dauer der Parese die Anästhesiedauer teilweise erheblich überschritt. Da die Lokalanästhesie und nicht die Parese die für den klinischen Gebrauch angestrebte Wirkung ist (Koelzer und Wehr 1958a), ergibt sich für die Derivate, die keine Parese auslösen, eine größere therapeutische Breite und damit eine bessere praktische Anwendbarkeit.

Im Rahmen der Toxizitätsbestimmung zeigte sich für alle Morpholinderivate mit einer *unverzweigten* Seitenkette eine ähnliche Toxizität wie für die Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid ($LD_{50} = 0,35 \text{ g/kg KM}$). Ein typisches Vergiftungsbild mit Hypokinesie, Erhöhung der Atemfrequenz und erhöhter Geräuschempfindlichkeit, wie es von Loy (2003) beobachtet wurde,

trat in den vorliegenden Untersuchungen nicht auf. Schatton (1977) beschrieb eine positive Korrelation zwischen Lipophilie und Toxizität. Fomocain selbst zeigte in dem von ihm aufgezeigten Vergleich von Morpholinderivaten die geringste Lipophilie und gleichzeitig die niedrigste Toxizität bei stärkster oberflächenanästhetischer Wirkung. Durch Einfügung *unverzweigter* Seitenketten am Morpholinring wird dieser Zusammenhang trotz steigender Lipophilie nicht sichtbar. Es kann lediglich vermutet werden, da die LD₅₀-Werte der Derivate tendenziell unter dem LD₅₀-Wert für Fomocain-Hydrochlorid liegen (Abb. 33). Eine Ausnahme stellt die Substanz OW 7 dar, bei der bis zu einer getesteten Konzentration von 0,6 g/kg KM kein Tier gestorben ist. Die LD₅₀ liegt folglich höher als 0,6 g/kg KM, was im Vergleich zu Fomocain-Hydrochlorid einer geringeren Toxizität entsprechen würde. Da es sich bei OW 7 (C₄-Substituent) um das Derivat mit der längsten Seitenkette in 2-Position handelt, verhalten sich offensichtlich hierbei Lipophilie und Toxizität reziprok.

Zu beachten ist, dass anhand der approximativen LD₅₀ die Toxizität nur näherungsweise angegeben werden kann. Weiterreichende Untersuchungen der Toxizität waren aber aus Tierschutzgründen nicht zulässig. Beruhend auf dem Tierschutzgesetz dürfen nur so viele Tiere verwendet werden, wie für den verfolgten Zweck erforderlich sind. Dabei sind die Versuche auf das unerlässliche Maß zu beschränken (TierSchG § 9 Abs. 2). Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Methode nach Miller und Tainter (1944) ermöglicht es, mit drei bis fünf Dosierungen pro Substanz, bei n = 6 Tieren pro Gruppe, die LD₅₀ approximativ zu bestimmen. Die Berechnung von 95%-Vertrauensintervallen und Signifikanztests sind wegen der zu geringen Anzahl der Beobachtungen nicht möglich.

Zusammenfassend können die Aussagen von Schatton (1977) bestätigt werden: eine notwendige Voraussetzung für eine gute lokalanästhetische Wirkung ist ein optimales Gleichgewicht zwischen hydrophiler und lipophiler Komponente. Fomocain erfüllt diese Voraussetzung am besten. Änderungen der Molekülstruktur (z. B. durch Einfügung von Seitenketten) beeinflussen dieses Gleichgewicht und somit die physikochemischen Eigenschaften des Moleküls, worauf letztendlich wohl die graduellen Unterschiede in der lokalanästhetischen Wirkung innerhalb einer homologen Reihe beruhen. Die

Einführung einer *unverzweigten* Seitenkette in die Grundstruktur des Fomocainmoleküls bewirkt mit steigender Lipophilie (Tab. 5) eine zunehmend bessere oberflächenanästhetische Wirkung bei nur unbedeutend höherer Toxizität. Im Vergleich zu Fomocain ergibt sich für OW 7 aufgrund der signifikant besseren oberflächenanästhetischen Wirksamkeit, der geringeren Toxizität und wegen des Ausbleibens einer Parese, eine größere therapeutische Breite. Als Leitungsanästhetikum besitzt OW 7 dagegen keine Vorteile. Auch die Substanz OW 13 zeigte eine starke oberflächenanästhetische Wirkung und verursachte keine Parese. Diese beiden Substanzen könnten daher für weiterführende Untersuchungen als Voraussetzung für die Übernahme in die klinische Anwendung interessant sein.

Die übrigen Morpholinderivate mit *unverzweigter* Seitenkette haben keine Vorteile gegenüber Fomocain. Trotz ähnlicher oberflächenanästhetischer Wirkung liegen die Werte für die LD₅₀ als Zeichen höherer Toxizität unterhalb der LD₅₀ von Fomocain. Die Substanzen kommen somit nicht als Lokalanästhetika in Betracht.

6.3.2 Andere Morpholinderivate

Neben der Variation des Morpholinringes durch Einfügen unverzweigter Seitenketten wurde das Fomocainmolekül noch auf andere Weise verändert. Oe 100 entstand durch die Verlängerung der Zwischenkette von drei auf fünf C-Atome. Bei dem Derivat OZ 9 erfolgte die Einführung einer Trifluormethylgruppe am Phenylring und bei der Substanz OW 15 wurde ein Isopropyl-Rest in 3-Position des Morpholinrings eingefügt. Diese drei Substanzen wurden als Gruppe "andere Morpholinderivate" zusammengefasst und auf eine mögliche Wirkungsverbesserung bei geringerer Toxizität im Vergleich zu Fomocain-Hydrochlorid hin untersucht. Koelzer und Wehr (1958a) beschrieben eine verbesserte Cornea-Anästhesierung bei *Verlängerung der Zwischenkette*. Dieser Effekt wurde bei dem Derivat Oe 100 nachgewiesen, welches als hervorragendes Oberflächenanästhetikum überzeugte. Schon in niedrigen Konzentrationen wurde im Vergleich zum Fomocain-Hydrochlorid eine stärkere oberflächenanästhetische Wirkung hervorgerufen (Abb. 23). Zudem lagen die

ermittelten effektiven Konzentrationen zu allen Zeiten (10, 20, 30 und 40 Minuten) unter denen für Fomocain-Hydrochlorid (Abb. 26, Anhang Tab. 9). Es kam zu keiner Überschneidung der Konfidenzintervalle und somit zu einer signifikant besseren oberflächenanästhetischen Wirkung als bei der Referenzsubstanz. Des Weiteren besitzt Oe 100 ($\text{lgP} = 4,76$) durch die zusätzliche Ethylengruppe in der Zwischenkette eine höhere Lipophilie als Fomocain ($\text{lgP} = 3,85$). Während Büchi et al. (1975) von einer geringeren Wirksamkeit bei zunehmender Lipophilie sprachen, kann ein solcher Zusammenhang für Oe 100 nicht bestätigt werden. Büchi et al. (1975) erklärten dieses Verhalten mit einer mangelhaften Wasserlöslichkeit. Folglich muss davon ausgegangen werden, dass Oe 100 durch die Verlängerung der Alkylenkette zwar lipophiler, die kritische Grenze der Wasserlöslichkeit aber noch nicht unterschritten wird. Analoge Erkenntnisse bezüglich der Oberflächenanästhesie gewann auch Loy (2003) bei der Untersuchung von OE 1000, wo in die Zwischenkette des Fomocainmoleküls eine Methylengruppe eingefügt wurde. Auch hier wurde durch die Verlängerung der Zwischenkette eine signifikante Wirkungsverbesserung im Vergleich zur Referenzsubstanz (Fomocain) erzielt. Bei Betrachtung der effektiven Konzentrationen wird deutlich, dass die oberflächenanästhetische Wirkung mit wachsender Zwischenkette zunimmt. Während man vom Fomocain-Hydrochlorid (C_3 -Zwischenkette) ca. 0,5 % (Anhang Tab. 9) benötigt, um eine 30-minütige Anästhesie der Cornea zu erzielen, werden von OE 1000 (C_4 -Zwischenkette) ca. 0,2 % (Loy 2003) und von Oe 100 (C_5 -Zwischenkette) sogar nur ca. 0,1 % benötigt.

Die Anlagerung einer Isopropyl-Gruppe in 3-Position am Morpholinring (OW 15) bewirkte eine Verschlechterung der Oberflächenanästhesie gegenüber Fomocain. Wie die effektiven Konzentrationen zeigen (Abb. 26), wirkte OW 15 zudem signifikant schlechter als OW 13 (Fomocainderivat mit unverzweigter Seitenkette gleicher Länge und Position). Um beispielsweise eine Anästhesiedauer von 40 Minuten an der Cornea zu erzielen, benötigt man von OW 13 eine Konzentration von ca. 0,3 %, von OW 15 dagegen muss fast das Vierfache verwendet werden (ca. 1,1 %). Für die verzweigte Struktur lässt sich somit eine geringere Rezeptoraffinität vermuten.

Schon früh erkannte man, dass geeignete Substitutionen des aromatischen Restes die lokalanästhetische Wirkung begünstigen (Büchi und Perlia 1962a). Die Einfügung einer *Trifluormethylgruppe* am Phenylring, wie bei OZ 9, hat sich jedoch nicht als wirkungsverstärkend erwiesen. Die effektiven Konzentrationen belegen zu allen Zeiten (10, 20, 30, 40 Minuten) eine signifikant schlechtere Wirkung im Vergleich zu Fomocain-Hydrochlorid (Abb. 26).

Auffallend ist, dass das relative Molekulargewicht der Substanz OZ 9 im Vergleich zur Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid um ca. 10 % höher ist (siehe Tab. 5). Daher könnte eine Betrachtung der Dosis-Wirkungs-Beziehung auf molarer Basis interessant sein. Zunächst wurde untersucht, ob sich nach Umrechnung der effektiven Konzentrationen (EC) in mol andere Aussagen ergeben. Bezogen auf das Applikationsvolumen von 0,05 ml werden von der Substanz OZ 9, die von allen Derivaten das größte relative Molekulargewicht besitzt, 1,92 mmol benötigt, um eine Oberflächenanästhesie von 30 Minuten zu erzeugen. Von der Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid werden lediglich 0,75 mmol benötigt. Das Verhältnis der EC in der prozentualen Darstellung liegt bei einem Faktor von 3 (0,52 % für Fomocain-Hydrochlorid zu 1,6 % bei OZ 9; siehe Anhang Tab. 9). Aufgrund des höheren Molekulargewichts von OZ 9 (416 als OZ 9-Hydrochlorid) ist das Verhältnis zwischen der erforderlichen Stoffmenge von der Referenzsubstanz Fomocain-Hydrochlorid (Molekulargewicht 348) und der von OZ 9 benötigten Stoffmenge auf den Faktor 2,6 verringert (0,75 mmol für Fomocain-Hydrochlorid zu 1,92 mmol für OZ 9). Trotzdem bleibt OZ 9 auch bei molarer Dosierung signifikant schlechter wirksam als Fomocain-Hydrochlorid. Bei weiteren Berechnungen der molaren Wirksamkeit wurden analog zu diesem Beispiel bei der Darstellung effektiver Konzentrationen in mol keine anderen Aussagen sichtbar. Signifikante Unterschiede zwischen einer Testsubstanz und Fomocain-Hydrochlorid bestehen, unabhängig davon, ob man die Werte auf Gewichtsprozent oder Molaritäten bezieht. Dies ist allerdings nicht überraschend, da sich die Molekulargewichte der Testsubstanzen nur unwesentlich voneinander unterscheiden. Direkte Zusammenhänge zwischen dem Molekulargewicht und der anästhetischen Wirksamkeit bestehen demnach nicht. Vielmehr sind

die durch die unterschiedlichen Molekülstrukturen bedingten Veränderungen der physikochemischen Eigenschaften für eine gute bzw. schlechte Wirkung verantwortlich. Für die weiteren Betrachtungen beschränken wir uns deshalb auf die Darstellungen der EC-Werte als prozentuale Angaben.

Bezüglich der Leitungsanästhesie zeigte in der Gruppe „andere Morpholinderivate“ keine der Testsubstanzen bessere Eigenschaften als Fomocain-Hydrochlorid. Betrachtet man die effektiven Konzentrationen, zeigt sich lediglich bei der Substanz Oe 100 eine ähnliche Wirkungstärke wie bei der Referenzsubstanz (Abb. 32, Anhang Tab. 13). Das Resultat von Koelzer und Wehr (1958a), die Untersuchungen zu Lokalanästhetika vom Typ basischer Anilide durchführten und dabei eine stärkere leitungsanästhetische Wirkung bei Verlängerung der Zwischenkette feststellten, hat sich bei Oe 100 nicht gezeigt. Auch bei Loy (2003) zeigte sich keine leitungsanästhetische Wirkungsverbesserung bei Verlängerung der Zwischenkette um ein C-Atom (OE 1000). Im Gegensatz zur Oberflächenanästhesie scheint die Verlängerung der *Zwischenkette* bei den Morpholinderivaten und folglich die Erhöhung der Lipophilie nur einen geringen Einfluss auf die Wirksamkeit in der Leitungsanästhesie zu haben. In unseren Untersuchungen dagegen verschlechterten Substituenten in Form einer *verzweigten* Seitenkette oder einer *Trifluormethylgruppe* die Wirkung erheblich (Tab. 13). Die effektiven Konzentrationen belegen für beide Substanzen eine zu allen vier Zeiten signifikant schlechtere Wirkung als für Fomocain-Hydrochlorid (Abb. 32).

Wie bei den Morpholinderivaten mit *unverzweigter* Seitenkette in 2- bzw. 3-Position bereits dargelegt wurde, traten bei den Versuchen zur Leitungsanästhesie vereinzelte Paresen auf. Diese blieben jedoch ab einer Kettenlänge von drei C-Atomen aus. Dies gilt offenbar nicht bei Vorhandensein einer *verzweigten* Seitenkette (OW 15). Bei dieser Substanz zeigten die Versuchstiere trotz einer Seitenkette von drei C-Atomen in drei von vier Konzentrationen eine paretische Wirkung, die sich konzentrationsunabhängig über einen Zeitraum von 30 bis 40 Minuten erstreckte (Anhang Tab. 15). Nach Gabe von Oe 100 traten trotz der *längeren Zwischenkette* keine Paresen auf. Das gleiche Ergebnis zeigte sich bei OZ 9, wo die Substitution einer *Trifluormethylgruppe* am Phenylring des Fomocain keine Beeinträchtigung der Motorik hervorrief.

Da die klinische Brauchbarkeit eines Lokalanästhetikums nicht nur von seiner schmerzausschaltenden Wirkung, sondern auch von seiner Toxizität und seiner Gewebeverträglichkeit abhängig ist, wurden für diese Substanzen Toxizitätsbestimmungen durchgeführt. Hierbei lagen die LD₅₀-Werte für Oe 100 (0,32 g/kg KM) und OW 15 (0,33 g/kg KM) im Bereich der LD₅₀-Werte für Fomocain-Hydrochlorid (0,35 g/kg KM) (Anhang Tab. 17). Die nach Schatton (1977) getroffene Aussage über eine positive Korrelation von Toxizität und Lipophilie kann damit nicht eindeutig belegt werden. Auch die Feststellung von Koelzer und Wehr (1958a), dass die Verlängerung der *Zwischenkette* sowohl die leitungs- und oberflächenanästhetischen Wirkung als auch die Toxizität verstärkt und damit die Brauchbarkeit der Derivate durchweg verschlechtert, kann durch unsere Versuche nicht eindeutig bestätigt werden.

OZ 9 dagegen wirkte bis zu einer Konzentration von 0,4 g/kg KM bei keinem der Versuchstiere letal, so dass offensichtlich der LD₅₀-Wert über 0,4 g/kg KM liegen muss. Ein Vergleich auf molarer Ebene (siehe Seite 77) zeigte ebenso kein anderes Ergebnis. Das spricht für eine geringe Toxizität bei Einfügen einer *Trifluormethylgruppe* in die Fomocain-Struktur.

Fasst man die Ergebnisse zusammen, würde die mit Fomocain vergleichbare Toxizität die Anwendung der "anderen Morpholinderivate" (OW 15, Oe 100 und OZ 9) in der Praxis erlauben. Allerdings wies nur Oe 100 eine überzeugende oberflächenanästhetische Wirkung auf. OW 15 und OZ 9 wirkten sowohl bei der Oberflächen- als auch bei der Leitungsanästhesie schlechter. Des Weiteren konnte Oe 100 durch einen ausreichenden leitungsanästhetischen Effekt (ähnlich dem des Fomocain) überzeugen. Zudem führte die Substanz mit verlängerter *Zwischenkette* nicht zu Paresen und besitzt somit eine große therapeutische Breite, wodurch sie für eine weitere Testung zur klinischen Anwendung infrage kommt.

6.3.3 Thiofomocaine mit Morphin- und Diethanolaminstruktur

Eine andere Möglichkeit der Strukturveränderung des Fomocainmoleküls mit dem Ziel einer Wirkungsverbesserung bei geringeren Nebenwirkungen stellt die Synthese der Thiofomocaine dar. Hierbei erfolgte der Austausch des Sauerstoffatoms durch ein Schwefelatom. Es wurden zum einen die

Thiofomocaine mit Morpholinstruktur (Oe 5555, Oe 3000, Oe 2000 und Oe 4000) betrachtet, welche sich durch die Länge der Zwischenkette unterscheiden und somit eine homologe Reihe bilden. Zum anderen wurden die Thiofomocaine mit Diethanolaminstruktur (Oe 3500, Oe 2500 und Oe 4500) untersucht, bei denen eine Öffnung des Morpholinrings und eine zusätzliche Einfügung von jeweils zwei weiteren Hydroxylgruppen erfolgte. Auch diese Substanzen bilden eine homologe Reihe mit unterschiedlicher Länge der Zwischenkette.

Die Substanz Oe 5555 rief nur eine geringe oberflächenanästhetische Wirkung hervor. Da Oe 5555 ($1 \times -CH_2-$) eine kürzere Alkylkette als Fomocain ($3 \times -CH_2-$) aufweist, könnte die mangelhafte Wirkung einerseits durch die geringere Lipophilie bedingt sein. Andererseits könnte die geringe Wirksamkeit durch die Thioetherfunktion hervorgerufen werden, denn auch Büchi und Perlia (1962a) untersuchten den Ersatz der Carboxyl-Gruppe im Procain u. a. durch Schwefel und stellten eine geringere Wirkung des Thiocains fest. Um eine Wirkdauer von 10 bzw. 20 Minuten zu erreichen, benötigte man von den Substanzen Oe 3000 und Oe 3500 ähnliche Konzentrationen wie von Fomocain-Hydrochlorid (Abb. 26). Bezogen auf die Anästhesiedauer waren beide Substanzen (jeweils $2 \times -CH_2-$) in allen Versuchen schlechter wirksam. Auch hier könnte die Ursache dafür in der geringeren Lipophilie liegen. Da aufgrund ausgeprägter Barrierefunktion vor allem lipophile Substanzen durch die Lipidmembranen des mehrschichtigen Corneaepithels diffundieren können, ist die Penetration vergleichsweise weniger lipophiler Substanzen eingeschränkt (Lippold und Steinke 1990).

In den Versuchen zur Bestimmung der Oberflächenanästhesie fällt weiterhin auf, dass die Substanz Oe 2000, welche das Analogon zur Muttersubstanz darstellt und sich lediglich durch die Thioetherfunktion unterscheidet, signifikant bessere Wirkungen zeigte als Fomocain-Hydrochlorid. Eine im Vergleich zur Referenzsubstanz signifikant bessere oberflächenanästhetische Wirkung trat auch nach Gabe der Substanz Oe 2500 auf, deren Morpholinring im Gegensatz zu Oe 2000 geöffnet ist.

Innerhalb der homologen Reihen der Thiofomocaine mit Morpholin- bzw. Diethanolaminstruktur lässt sich zusammenfassend feststellen, dass jeweils die Derivate mit längerer Zwischenkette (ab $3 \times -CH_2-$) eine signifikant

bessere Wirkung als Oberflächenanästhetika im Vergleich zu Fomocain-Hydrochlorid erzielten (Abb. 26). Ähnliche Resultate wurden in früheren Untersuchungen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen bei Fomocainen beobachtet. Hierbei zeigte sich, dass Verbindungen ab einer Zwischenkette von drei C-Atomen gute leitungs- und oberflächenanästhetische Eigenschaften haben. Die Beobachtung, dass von vier C-Atomen an die Wirkung schon wieder abnahm (Schatton 1977), wurde jedoch für die Thiofomocaine nicht bestätigt. Bei den Thiofomocainen mit Diethanolaminstruktur verstärkte sich der oberflächenanästhetische Effekt sogar bedeutend bei Verlängerung der Zwischenkette auf vier C-Atome. Oe 4500 (4 x -CH₂-) zeigt schon in Konzentrationen von etwa 0,2 % eine 10-minütige Anästhesierung der Cornea, während man von Oe 2500 (3 x -CH₂-) für die gleiche Anästhesiedauer eine 0,35%-ige Lösung benötigt (Anhang Tab. 9). Die Thiofomocaine mit Morpholinstruktur wirken dagegen ab einer Kettenlänge von drei C-Atomen (Oe 2000, Oe 4000) in gleichen Konzentrationsbereichen (Anhang Tab. 9). Hier scheint sich mit zunehmender Lipophilie ein Plateau des Dosis-Wirkungsverhältnisses einzustellen. Vergleicht man die Substanzen gleicher Kettenlänge untereinander, zeigt sich deutlich, dass die formale Öffnung des Morpholinringes keine signifikante Veränderung der oberflächenanästhetischen Wirksamkeit der Thiofomocaine bewirkt.

Loy (2003) untersuchte ebenfalls Diethanolamine mit steigender Kettenlänge, die sich von unseren Substanzen durch eine Etherfunktion statt der Thioetherfunktion unterscheiden. Wie folgendes Beispiel belegt, waren in ihren Untersuchungen tendenziell höhere effektive Konzentrationen zur Erzielung vergleichbarer Effekte erforderlich. Die von Loy (2003) untersuchte Substanz OE 6000 und die von uns untersuchte Substanz Oe 3500 haben beide eine Zwischenkettenlänge von zwei C-Atomen. Während man von OE 6000 etwa 1 % benötigt, um eine Anästhesiedauer von 40 Minuten an der Cornea hervorzurufen, müssen von Oe 3500 nur etwa 0,6 % verabreicht werden. Bei den Diethanolaminen scheint die Thioetherfunktion folglich im Vergleich zur Etherfunktion eine Wirkungsverstärkung bei der Oberflächenanästhesie hervorzurufen.

Bei den Versuchen zur Leitungsanästhesie konnten keine klaren Struktur-Wirkungs-Beziehungen herausgefunden werden. Die Substanzen Oe 5555, Oe 4000, Oe 3500 und Oe 4500 wirkten leitungsanästhetisch, wobei keine der Substanzen signifikant besser zu bewerten ist als Fomocain-Hydrochlorid. Aus der Berechnung der effektiven Konzentrationen (Abb. 32, Anhang Tab. 13) geht hervor, dass die Substanzen Oe 5555 und Oe 2500 zu allen Zeiten sogar signifikant schlechter wirken. Von diesen beiden Substanzen wurden deutlich höhere Konzentrationen benötigt, um eine gleiche Wirkung wie die Muttersubstanz zu erzielen. Die Konfidenzintervalle von Oe 4000, Oe 3500 und Oe 4500 überschneiden sich mit denen von Fomocain-Hydrochlorid, so dass sich für diese Substanzen dem Fomocain ähnliche leitungsanästhetische Wirkungen ergeben. Für Oe 3000 und Oe 2000 wurde mit steigenden Konzentrationen keine weitere Zunahme der Anästhesiedauer ermittelt. Demzufolge lässt sich kein Anstieg der Dosis-Wirkungs-Kurven (Abb. 30) bestimmen. Es konnten keine effektiven Konzentrationen berechnet werden (Abb. 32, Anhang Tab. 13). Möglicherweise war der maximal lösliche Anteil der Wirkstoffe bereits in der am niedrigsten getesteten Konzentration erreicht, so dass sich ein Sättigungsphänomen einstellte. Aus unseren Versuchen ergibt sich somit keine Verbesserung der leitungsanästhetischen Wirkung durch Einführung der Thioetherfunktion.

Paresen des N. ischiadicus traten nur vereinzelt auf, wobei dies bei den Thiofomocainen mit Morpholinstruktur seltener der Fall war (Anhang Tab. 15).

Die Toxizitätsbestimmungen für die Thiofomocaine mit Diethanolaminstruktur ergeben sowohl im Vergleich zu Fomocain-Hydrochlorid als auch bei Gegenüberstellung zu den von Loy (2003) untersuchten Diethanolaminen mit Etherbindung im Wesentlichen niedrigere LD₅₀-Werte. Somit konnte für die Thioether keine Verringerung der Toxizität nachgewiesen werden.

Zusammenfassend betrachtet können die Erkenntnisse von Koelzer und Wehr (1958a) bestätigt werden. Die Thiofomocaine führten mit zunehmender Kettenlänge zu einer besseren Schmerzausschaltung an der Cornea bei gleichzeitiger Erhöhung der Toxizität. Damit kommen diese Derivate zur klinischen Anwendung nicht infrage.

6.4 Einfluss der Lösungsvermittler Tylose und Propylenglycol auf die lokalanästhetische Wirkung und Toxizität einiger Fomocainderivate

Abschließend wurde der Einfluss der Lösungsvermittler 0,5 % Tylose bzw. 50 % Propylenglycol (PG) auf die Wirksamkeit einiger Fomocainderivate als Oberflächen- bzw. Leitungsanästhetikum sowie auf deren Toxizität untersucht. Wennek-Klose (2005) konnte für Fomocain eine gute Löslichkeit bei Verwendung einer 80%-igen PG-Lösung als Lösungsvermittler feststellen. Lösungsvermittler sind Hilfsstoffe, die die Löslichkeit von Arzneistoffen verbessern. Die pharmakologische Unbedenklichkeit des PG ist seit langem bekannt (Anschel 1965, Fiedler 1996). In Anlehnung an die Beobachtung von Wennek-Klose (2005) sollte geklärt werden, ob für die Fomocainderivate, die Gegenstand unserer Untersuchungen waren, mit dem Lösungsvermittler 50 % PG bessere Ergebnisse als mit 0,5 % Tylose erzielt werden können. Zum Vergleich der Wirkung wurden effektive Konzentrationen der getesteten Fomocainderivate gegenübergestellt, die unter Verwendung von Tylose bzw. PG ermittelt wurden. Der Wert für Tylose wurde von uns als Referenzwert festgelegt.

Im Versuch zur Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte wurde deutlich, dass PG nicht in der Lage war, die Wirkung der Fomocainderivate zu begünstigen (Abb. 34, Anhang Tab. 9 - 10). Von den Substanzen OW 7, Oe 100, Oe 2000 und Oe 4500 benötigten wir zu allen Zeiten signifikant höhere effektive Konzentrationen, wenn sie in PG gelöst waren. Gleiches galt für die Substanzen Oe 3000 und Oe 3500 für Anästhesiezeiten = 20 Minuten. Nur für eine Substanz (OZ 9) konnten für 20 und 40 Minuten geringere effektive Konzentrationen bei Verwendung von PG als Lösungsvermittler ermittelt werden.

Die Lösungsvermittlung des PG beruht auf der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen seiner Hydroxygruppe und dem hydrophilen Rest des Fomocainderivates. Ethanol verbessert die Resorption von Arzneimitteln Zubereitungen. Es ist jedoch bisher unklar, ob dies für PG auch gilt (Brand 1996). PG erhöht die Beständigkeit und Stabilität von Injektionszubereitungen (Anschel 1965). In unseren Untersuchungen zur Oberflächenanästhesie konnte, mit Ausnahme der Substanz OZ 9, mit PG

keine Wirkungsverbesserung erzielt werden. PG ist als Lösungsvermittler für die Fomocainderivate zum Einsatz als Oberflächenanästhetika nicht besser geeignet als Tylose. Tylose ist ein Methylcellulosepräparat, das als Stabilisator für Suspensionen und Emulsionen dient. Es wirkt als Emulgator und bildet mit den Fomocainderivaten eine O/W-Emulsion. Tylose reduziert die Oberflächenspannung an der O/W-Phasengrenzfläche und verbessert dadurch die Mischbarkeit der schwer in Wasser löslichen, hydrophoben Fomocaine in wässriger Lösung. Es wirkt so einer Entmischung entgegen. Die grenzflächenaktiven (tensidischen) Eigenschaften von Tylose beruhen auf der chemischen Struktur von Celluloseether-Molekülen, insbesondere in der gleichzeitigen Anwesenheit hydrophiler und hydrophober Gruppen (www.setylose.de). Honnegger et al. (1979) beobachteten bei Untersuchungen von Augentropfen, die Pilocarpin enthielten, dass Methylcellulose als Vehikel die Wirkung verbesserte. Haas und Merrill (1962) stellten anhand radioaktiv markierter Augentropfen fest, dass methylcellulose-haltige Zubereitungen weniger schnell durch die Tränenflüssigkeit verdünnt werden als wässrige Augentropfen. Durch eine Solubilisierung oder Suspension des Wirkstoffes könnte es zu einem Retardeffekt gekommen sein. Diese Beobachtungen und die zuvor genannten Eigenschaften von Tylose könnten die teilweise bessere Eignung als Lösungsvermittler für die Fomocainderivate im Einsatz als Oberflächenanästhetika begründen.

Ein uneinheitliches Bild zeigte sich in den Versuchen zur Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte (Abb. 35, Tab. 13 - 14). Hier wurden für die Substanzen OW 13 (10 - 40 Minuten Anästhesiedauer), OW 15 (30 - 40 Minuten) und Oe 100 (10 - 30 Minuten) signifikant geringere effektive Konzentrationen unter Verwendung von PG als Lösungsvermittler ermittelt. Demzufolge wäre für diese Derivate PG zur Herstellung von Wirkstoffzubereitungen besser geeignet als Tylose. Anders verhielt es sich bei Oe 4000 und Oe 3500. Für diese Substanzen war Tylose der geeignetere Lösungsvermittler, da hiermit geringere effektive Konzentrationen nötig waren als bei Verwendung von PG. In den Versuchen zur Leitungsanästhesie ist somit kein einheitlicher Zusammenhang zwischen der Wirkstärke und dem eingesetzten Lösungsvermittler erkennbar. Eine

endgültige Klärung, welcher Lösungsvermittler sich für die Leitungsanästhesie besser eignet, ist aus den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit nicht möglich, sollte aber Gegenstand weiterführender gezielter pharmazeutischer Untersuchungen sein.

Bei der Betrachtung der Toxizität der Fomocainderivate (Abb. 36, Anhang Tab. 17 - 18) fällt auf, dass die Substanzen Oe 100 und Oe 4000, in Tylose solubilisiert, geringer toxisch waren. Die LD_{50} für diese beiden Derivate, gelöst in PG, betrug nur etwa die Hälfte des Wertes der Zubereitung, die unter Verwendung von Tylose hergestellt wurde. Weniger ausgeprägt war dieses Phänomen auch für die Substanz Oe 3000. Es ist zu vermuten, dass unter Verwendung des Lösungsvermittlers PG der Wirkstoff schneller systemisch verfügbar und damit toxischer ist. Tylose ist demnach im Hinblick auf die Toxizität für diese drei Substanzen als Lösungsvermittler besser geeignet. Möglicherweise verbleibt der Wirkstoff durch die viskositätssteigernde Eigenschaft der Tylose länger am Ort der Applikation und wird durch eine langsamere Diffusion und Resorption erst verzögert in den großen Kreislauf aufgenommen. Auch eine Ausfällung der Substanzen an der Injektionsstelle könnte dazu geführt haben, dass die systemische Toxizität der in Tylose gelösten Derivate geringer war als im Vergleich zur PG-Zubereitung. Einzig die Substanz Oe 4500 zeigte bei Lösung in PG geringere toxische Wirkungen. Die LD_{50} dieser Substanz betrug, gelöst in Tylose, nur etwa die Hälfte als im Lösungsvermittler PG gelöst. Bei den übrigen Substanzen wurde die Toxizität, unabhängig davon, ob Tylose oder PG als Lösungsvermittler verwendet wurde, nicht verändert.

Insgesamt sprechen die Versuchsergebnisse dafür, dass Tylose mehrheitlich als besser geeigneter Lösungsvermittler anzusehen ist. Nur in einzelnen Fällen konnte durch Lösung eines Derivates in PG eine Verbesserung der Wirkung bzw. eine Senkung der Toxizität beobachtet werden. Für die Klärung des Einflusses von Tylose bzw. PG auf die Wirkung und die Toxizität der Fomocainderivate sind weiterführende galenische Untersuchungen nötig. Dadurch könnte die Löslichkeit und der damit für die Wirkung zur Verfügung stehende Anteil des Wirkstoffs umfassend charakterisiert und bewertet werden.

7 Schlussfolgerungen

Fomocain-Hydrochlorid (Fomo-HCl) zeigte erwartungsgemäß gute Eigenschaften als Oberflächenanästhetikum und erwies sich als nur gering toxisch.

Unverzweigte C-Alkylmorpholinderivate des Fomocain mit einem C₄-Substituenten in 2-Position (OW 7) und einem C₃-Substituenten in 3-Position (OW 13) waren signifikant stärker oberflächenanästhetisch wirksam als Fomo-HCl. Eine Struktur-Wirkungs-Beziehung ist erkennbar. OW 7 und OW 13 sind innerhalb ihrer homologen Reihen die beiden Substanzen mit den längsten Seitenketten und demnach mit der höchsten Lipophilie. Es besteht eine positive Korrelation zwischen der Kettenlänge des Substituenten und der oberflächenanästhetischen Wirkung. Eine verzweigte Seitenkette (OW 15) erwies sich als nachteilig für die Oberflächenanästhesie. Das Morpholinderivat Oe 100 (C₅-Zwischenkette) wirkte an der Cornea signifikant stärker anästhesierend als Fomo-HCl.

OW 7 und Oe 100 zeichneten sich zusätzlich durch eine geringere Toxizität als Fomo-HCl aus. Ein therapeutischer Einsatz dieser beiden Derivate könnte nach weiterer präklinischer Testung infrage kommen.

Die Thioetherfunktion begünstigt die Wirkung der Derivate als Oberflächenanästhetika. Das Thioetheranalogon des Fomocain, die Substanz Oe 2000, wirkte signifikant stärker als Fomo-HCl, zeigte jedoch stärkere toxische Effekte. Thiofomocaine mit längerer Zwischenkette, also lipophilere Substanzen, waren als Oberflächenanästhetika stärker wirksam. Signifikante Unterschiede bezüglich der Wirkung von Substanzen mit Morpholinstruktur im Vergleich zu Derivaten mit Diethanolaminstruktur traten nicht auf.

Als Leitungsanästhetikum war kein Derivat signifikant stärker wirksam als Fomo-HCl. Struktur-Wirkungs-Relationen waren hierbei nicht erkennbar.

Ungeklärt bleibt, welcher Lösungsvermittler (Tylose oder Propylenglycol) besser geeignet ist, um eine optimale Wirkung bzw. möglichst geringe Toxizität der Substanzen zu erzielen. Alle Derivate sind generell schwer wasserlöslich. Der für die Wirkung zur Verfügung stehende freie Anteil des Wirkstoffes könnte durch Ausfällung am Applikationsort reduziert sein. Weiterführende galenische Untersuchungen sind erforderlich, um diesen Sachverhalt abschließend zu beurteilen.

8 Literaturverzeichnis

Anschel J. (1965)

Lösungsmittel und Lösungsvermittler in Injektionen.
Pharm. Ind. 27: 781 - 787

Arzneistoff-Profile:

Basisinformation für arzneiliche Wirkstoffe.
Govi-Verlag Eschborn
(Fomocain 1982, Procain 1986 / 90, Tetracain 1985)

Biel M. (2005)

Lokalanästhetika.
In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie.
Hrsg.: Aktories K., Förstermann, U., Hofmann F., Starke K.,
Urban & Fischer, München, Jena, 9. Auflage; S. 255 - 262

Biscoping J., Bachmann-Mennenga M.B. (2000)

Lokalanästhetika: Vom Ester zum Isomer.
Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther. 35: 285 - 292

Blume H., Oelschläger H. (1981)

Biotransformation des Lokalanästhetikums Fomocain durch
Rattenlebermitochondrien.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 31: 1731 - 1735

Brand N. (1996)

Alkohol in Arzneimitteln.
Dtsch. Apoth. Ztg. 136: 251 - 258

v. Bruchhausen F. (1999)

Stoffe A-K.
In: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis.
Hrsg.: v. Bruchhausen F., Springer, Berlin, 5. Auflage; S. 288 - 290

v. Bruchhausen F., Dannhardt G., Ebel S., Frahm A.W., Hackenthal E. (1994)

Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis.
5. Auflage, Springer, Berlin, Heidelberg, New York,
Band 8; S. 288 - 290

Büch H.P., Rummel W. (2004)

Lokalanästhetika.
In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Hrsg.: Forth W., Henschler D., Rummel W., Förstermann U., Starke
K., Urban & Fischer, München, Jena, 8. Auflage; S. 267 - 275

Büchi J., Perlia X. (1960a)

Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften
und der Wirkung von Lokalanästhetika I.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 10: 1 - 8

- Büchi J., Perlia X. (1960b)
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Wirkung von Lokalanästhetica III.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 10: 174 - 177
- Büchi J., Perlia X. (1962a)
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Wirkung von Lokalanästhetica XII.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 12: 183 - 190
- Büchi J., Perlia X. (1962b)
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Wirkung von Lokalanästhetica XV.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 12: 519 - 524
- Büchi J., Perlia X. (1962c)
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Wirkung von Lokalanästhetica XVI.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 12: 626 - 630
- Büchi J., Perlia X., Studach S.P. (1967)
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften, der chemischen Reaktivität und der lokalanästhetischen Wirkung bei einigen Procain-Homologen.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 17: 1012 - 1021
- Büchi J., Koller R.J., Perlia X. (1975)
Zusammenhänge zwischen der chemischen Konstitution, den physikalisch-chemischen Eigenschaften, der chemischen Reaktivität und der Wirkung einiger stellungsisomerer Lokalanästhetika.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 25: 14 - 24
- Butterworth J.F., Strichartz G.R. (1990)
The molecular mechanisms by which local anesthetics produce impulse blockade: a review.
Anesthesiol. 72: 711 - 734
- Catterall W.A. (1992)
Cellular and molecular biology of voltage-gated sodium channels.
Physiol. Rev. 72, Suppl. 4: S15 - S48
- Catterall W.A. (2000)
From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels.
Neuron. 26: 13 - 25
- Catterall W.A. (2001)
A 3D view of sodium channels.
Nature 409: 988 - 991

- Catterall W.A., Mackie K. (1998)
Lokalanästhetika.
In: Goodman & Gilman's: Pharmakologische Grundlagen der Arzneimitteltherapie.
Hrsg.: Hardman J.G. Hrsg. dt. Ausgabe: Peter Dominiak, McGraw-Hill, New York, 9. Auflage; S. 345 - 361
- Catterall W.A., Goldin A.L., Waxman S.G. (2005)
International Union of Pharmacology XXXIX: Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels.
Pharmacol. Rev. 57: 397 - 409
- Covino B.G. (1987)
Toxicity and systemic effects of local anaesthetic agents.
In: Local Anaesthetics.
Hrsg.: Strichartz G.R., Springer, Berlin, Heidelberg; S. 187 - 209
- Dick H. B., Schäfer M. (2003)
Augenheilkunde.
In: Lokalanästhesie, Regionalanästhesie, Regionale Schmerztherapie.
Hrsg.: Niesel H.C., van Aken H., Thieme, Stuttgart, New York, 2. Auflage; S. 503 - 504
- Drenckhahn D., Rager G. (2004)
Visuelles System.
In: Anatomie Bd. 2.
Hrsg.: Benninghoff A., Drenckhahn D., Urban & Fischer München, 16. Auflage; S. 667 - 670
- Dudel J. (1997)
In: Physiologie des Menschen.
Hrsg.: Schmidt R.F., Thews G., Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 27. Auflage; S. 20 - 42
- Ensinger H. (2005)
Narkose - Inhalationsanästhetika und Injektionsanästhetika.
In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie.
Hrsg.: Aktories K., Förstermann U., Hofmann F., Starke K., Urban & Fischer, München, Jena, 9. Auflage; S. 263 - 282
- Fiedler H.P. (1996)
Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete Bd. 2 (L-Z).
Hrsg.: Fiedler H.P., Editio-Cantor-Ver., Aulendorf, 4. Aufl; S. 1278 - 1282, 1619 - 1621

- Fleck C., Kämena M., Tschritter L., Kersten L., Seeling A., Glassl P., Oelschläger H. (2001)
Local anaesthetic effectivity and toxicity of fomocaine, five N-free fomocaine metabolites and two chiralic fomocaine derivatives in rats compared with procaine.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 51: 451 - 458.
- Fleck C., Karge E., Loy S., Wennek-Klose J., Listing M., Oelschläger H. (2003)
Local anaesthetic effects and toxicity of seven new diethanolamine and morpholine derivatives of fomocaine. Testing in rats compared with procaine and tetracaine.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 53: 221 - 228
- Fleck C., Wennek-Klose J., Wange J., Oelschläger H. (2004)
Effects and toxicity of new fomocaine derivates and of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion compounds in rats.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 54: 265 - 274
- Gaunt I.F., Carpanini F.M.B., Grasso P., Lansdown A.B.G. (1972)
Long-term toxicity of propylene glycol in rats.
Food, Cosmet. Toxicol. 10: 151 - 162
- Glassl P. (1995)
Synthese, Trennung und physikalisch-chemische Eigenschaften von chiralen Fomocainen.
Dissertation, Fachbereich Biochemie, Pharmazie und Lebensmittelchemie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt/M.
- Haas J.S., Merrill D.L. (1962)
The effect of methyl-cellulose on responses to solutions of pilocarpine.
Am. J. Ophthalmol. 54: 21 - 24
- Haas W. (1993)
Experimentelle Nervinjektionsschäden durch Lokalanästhetika am N. ischiadicus der Ratte.
Dissertation, Med. Fakultät, Eberhard-Karls-Universität Tübingen.
- Harrison R.F., Tayob Y., Brennan M. (1982)
The use of local anaesthetic aerosol spray for the relief of pain after episiotomy.
Ir. Med. J. 75: 190 - 191
- Herr F. (1958)
Zur Frage der Standardisierung der Prüfung von Lokalanästhetika.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 8: 137 - 141
- Hoening V., Werner F. (1980)
Is propylene glycol an inert substance?
Toxicol. Lett. 5: 389 - 392

- Honegger H., Dausch D., Maris P. (1979)
Verweildauer und Wirkung von Medikamenten im Bindehautsack.
Ber. Dtsch. Ophth. Ges. 77. Zusk., Heidelberg 1979
Zit. in: Ophtalmika, Hrsg.: Dolder R., Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart, 1990
- Illes P., Allgaier C. (2005)
Analgetika - Behandlung von Schmerzen.
In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie.
Hrsg.: Aktories K., Förstermann, U., Hofmann F., Starke K.,
Urban & Fischer, München, Jena, 9. Auflage; S. 231 - 254
- Jacob J. M. (2005)
Sieg über den Schmerz.
Dental Magazin 6/2005: 48 - 57
- Karger-Decker B. (1984)
Besiegter Schmerz - Geschichte der Narkose und Lokalanästhesie.
Köhler & Amelang, Leipzig; S. 28 - 39, 180 - 229
- Klößing H.P., Güttner J., Wiezorek W.D. (1990)
Aktuelle Probleme der Toxikologie.
Band 5: Grundlagen der Statistik für Toxikologen.
Verlag Gesundheit, Berlin, 2. Auflage; S. 82 - 97
- Knothe H., Beckmann I., Kiesel K., Oelschläger H. (1980)
Über die antibakterielle Wirkung eines Brand- und Wundgels mit den
Komponenten Tyrothricin, Fomocain, Diphenhydramin und 8-
Hydroxychinolin.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 30: 667 - 670
- Koch K. (1970)
Beiträge zur Analytik und Pharmakokinetik des Lokalanästhetikums
Fomocain.
Dissertation, Naturwissenschaftliche Fakultät, Johann-Wolfgang-
Goethe-Universität Frankfurt/M.
- Koelzer P.P., Wehr K.H. (1958a)
Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und
pharmakologischer Wirkung bei mehreren Klassen neuer
Lokalanästhetika.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 8: 181 - 190
- Koelzer P.P., Wehr K.H. (1958b)
Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und
pharmakologischer Wirkung bei mehreren Klassen neuer
Lokalanästhetika.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 8: 270 - 275

- Kohlhardt M. (1989)
Elementareigenschaften und die Interaktion einzelner myokardialer Na^+ -Kanäle mit Antiarrhythmika.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 39: 126 - 129
- Lembeck F. (1953)
Adrenalin, Noradrenalin und Corbasil als Zusatz zu Novocain.
Arch. Exper. Pathol. Pharmacol. 217: 274 - 279
- Liljestrand G. (1967)
Carl Koller and the development of local anesthesia.
Acta Physiol. Scand. Suppl. 229: 1 - 30
- Lippold B.C., Steinke G. (1990)
Biopharmazeutische Aspekte der Augenarzneizubereitungen.
In: Ophtalmika.
Hrsg.: Dolder R., Skinner F.S., Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart,
4. Auflage; S. 354 - 368
- Löfgren N. (1946)
Studien über Lokalanästhetica.
Ark. Kemi. Mineral. Geol. 22A: 1 - 30
- Loy S. (2003)
Tierexperimentelle Untersuchungen zur lokalanästhetischen Wirkung
sowie Abklärung der Toxizität von einigen neuen Morpholin- und
Diethanolaminderivaten aus der Gruppe der Fomocaine.
Dissertation, Med. Fakultät, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Lupp A., Karge E., Wange J., Eisentraut C., Zwenzner T., Oelschläger H.,
Fleck C. (2006)
In vitro interactions with the Cytochrome P450 system, toxicity, and
local anaesthetic effects of Fomocaine Alkylmorpholine derivatives in
rats.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 56: 1 - 11
- Meyer H.J. (1965)
Therapieschäden am Auge durch Oberflächenanästhetika.
Dt. med. Wschr. 90: 1676 - 1678
- Miller L.C., Tainter M.L. (1944)
Estimation of the ED_{50} and its error by means of logarithmic probit
graph paper.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57: 261 - 264
- Moller R., Covino B. (1988)
Cardiac electrophysiologic properties of bupivacaine and lidocaine
compared with those of ropivacaine, a new amide local anaesthetic.
Anesthesiol. 72: 322 - 329

- Mutschler E. (2001)
Arzneimittelwirkungen.
Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart, 8.Auflage; S. 267 - 273
- Nachev P.K. (1982)
Bindung der lokalanästhetisch wirkenden Fomocaine an Blutproteine und Gewebeeisweiß.
Dissertation, Fachbereich Biochemie, Pharmazie und Lebensmittelchemie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt/M.
- Narahashi T., Frazier D.T. (1971)
Site of action and active form of local anesthetics.
Neurosci. Res. 4: 65 - 99
- Nieschulz O., Hoffmann I., Pependiker K. (1958)
Zur Pharmakologie des N-[4-(Phenoxy-methyl)-?-phenyl-propyl]-morpholin, eines Aminoäthers mit lokalanästhetischer Wirkung.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 8: 539 - 544
- Oelschläger H. (1959)
Darstellung des lokalanästhesierenden Aminoäthers N-[?-(4-Phenoxy-methyl-phenyl)-propyl]-morpholin und Beziehungen zwischen Toxizität und basischer Komponente bei N-[?-(4-Phenoxy-methyl-phenyl)-propyl]-aminen.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 9: 313 - 321
- Oelschläger H. (1977):
Fomocain, ein Oberflächenanästhetikum für die Dermatologie.
Arbeitsmedizin Sozialmedizin Präventivmedizin 12: 239 - 241
- Oelschläger H. (1982)
Über den Antihistamin-Effekt eines Brand- und Wund-Gels mit den Komponenten Tyrothricin, Fomocain, Diphenhadrymin und 8-Hydroxycholin.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 32: 72 - 75
- Oelschläger H. (2000):
Die Fomocaine aus chemischer, pharmakokinetischer und pharmakologischer Sicht: Aktueller Stand und Ausblick.
Pharm. Unserer Zeit 6: 358 - 364
- Oelschläger H., Rothley D. (1979)
Bioverfügbarkeit und lokalanästhetische Wirkung eines Brand- und Wundgels in der Kombination von Tyrothricin, Fomocain, Diphenhydramin und 8-Hydroxychinolin.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 29 : 693 - 697
- Oelschläger H., Ewald H.-W. (1986)
Synthese von C-14-Fomocain.
Arch. Pharm. Weinheim 319 : 113 - 119

- Oelschläger H., Nieschulz O., Meyer F., Schulz K.H. (1968):
N-[?-(4-Phenoxymethyl-phenyl)-propyl]-morpholin, ein neues
Oberflächenanästhetikum von bemerkenswerter Verträglichkeit.
Arzneim. Forsch. / Drug Res. 18 : 729 - 738
- Oelschläger H., Koch K., Haidu P. (1971)
Nachweis kleiner Mengen Fomocain im Harn und Serum.
Pharmac. Acta Helvet. 46: 671 - 676
- Oelschläger H., Rothley D., Müller M. (1982a)
Über den Antihistamin-Effekt eines Brand- und Wundgels mit den
Komponenten Tyrothricin, Fomocain, Diphenhydramin und 8-
Hydroxychinolin.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 32 : 72 - 75
- Oelschläger H., Ueberall S., Müller M. (1982b)
Vergleichende Untersuchungen über die lokalanästhetische Wirkung
von Ethoform und Fomocain.
Pharmazeut. Ztg., 127 : 271 - 273
- Popesko P., Rajtová V., Horák J. (1992)
A colour atlas of the anatomy of small laboratory animals Bd. 2.
Hrsg.: Popesko P., Wolfe Publishing Ltd., London; S. 91
- Reuter N., Meyer F., Ziegenmeyer J. (1975)
Herz- Kreislaufwirkungen des Fomocain.
Arzneim. Forsch. / Drug Res. 25: 1900 - 1906
- Ritchie J.M., Greengard P. (1966)
On the mode of action of local anesthetics.
Ann. Rev. Pharmacol. 6: 405 - 430
- Schäfer M. (2001)
Anästhesiologische Verfahren in der Ophthalmologie.
In: Augenheilkunde.
Hrsg.: Augustin A.J., Springer, Berlin, Heidelberg, New York,
2. Auflage; S. 598 - 601
- Schaible H.G., Schmidt R.F. (2000)
Nozizeption und Schmerz.
In: Physiologie des Menschen.
Hrsg.: Schmidt R.F., Thews G., Lang F., Springer, Berlin, Heidelberg,
New York, 28. Auflage; S. 236 - 250
- Schatton W. (1977)
Beziehungen zwischen chemischer Struktur und Biotransformation bei
Fomocain bei variiertem Aminoalkylgruppe.
Dissertation, Fachbereich Biochemie, Pharmazie und
Lebensmittelchemie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt/M.

- Schaumann O. (1938)
Chemie und Pharmakologie der Lokalanästhetika.
Arch. Exper. Pathol. Pharmacol. 190: 30 - 51
- Schwartz A. (1973)
Methods of pharmacology.
Hrsg.: Schwartz A., Meredith Corporation, New York; S. 1 - 27
- Seeling A. (1996)
Synthese und Analytik der Metabolite des Lokalanästhetikums
Fomocain sowie Abklärung ihrer Wirkung und Toxizität.
Dissertation, Fachbereich Biochemie, Pharmazie und Lebensmittel-
chemie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt/M.
- Selander D. (1999)
Peripheral nerve injury after regional anaesthesia.
In: Complications of regional anaesthesia.
Hrsg.: Finucane B.D., Churchill Livingstone, New York; S. 106 - 115
- Sicherheitsdatenblatt
Tylose H 20 P2 PHA
[http://www.setylose.de/wDeutsch/Service_Center/Druckschriften/Data
nblaetter/SiDats_deutsch/Tylose%20H%2020%20P2%20PHA%20SD
S-EU-DE.PDF](http://www.setylose.de/wDeutsch/Service_Center/Druckschriften/Data
nblaetter/SiDats_deutsch/Tylose%20H%2020%20P2%20PHA%20SD
S-EU-DE.PDF)
- Soehring K., Klingmüller O., Neuwald F. (1959)
Pharmakologische Untersuchungen über den Einfluss der
Zusammensetzung des Vehikels auf die Wirkung wässriger Lösungen
von Augenarzneien.
Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 9: 297 - 305
- Steinke G. (1990)
Lokalanästhetika.
In: Ophtalmika.
Hrsg.: Dolder R., Skinner F.S., Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart,
4. Auflage; S. 63 - 71
- Strichartz G. (1976)
Molecular mechanisms of nerve block by local anesthetics.
Anesthesiol. 45: 421 - 441
- Strichartz G. (1993)
Mechanisms of action of local anesthetic agents.
Principles Practice Anesthesiol. 2: 1197 - 1217
- Strichartz G.R., Ritchie J.M. (1987)
The action of local anesthetics on ion channels of excitable tissues.
In: Local Anesthetics, Handbook of Exp. Pharmacol., Vol. 81.
Hrsg.: Strichartz G., Springer Berlin; S. 21 - 53

- Takacs-Novak K., Oelschläger H., Budvari-Barany Z., Szasz G. (1992)
Partitioning behaviour of local anesthetic fomocaine derivatives.
Pharmazie 47: 587 - 592
- Temple D.J., Schesmer K.R. (1978)
The buccal absorption characteristics of Fomocaine.
Arch. Pharm. Weinheim 311: 485 - 491
- Thiele G. (1982)
Handlexikon der Medizin A-K.
Hrsg.: Thiele G., Urban & Schwarzenberg, München, Wien; S. 255
- Tschritter L., Kämena M. (2000)
Tierexperimentelle Untersuchungen der lokalanästhetischen Wirkung
sowie Abklärung der Toxizität einiger Metabolite und chiraler Derivate
des Lokalanästhetikums Fomocain.
Dissertation, Med. Fakultät, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Vandam L.D. (1987)
Some aspects of the history of local anesthesia.
In: Local Anesthetics, Handbook of Exp. Pharmacol., Vol. 81,
Hrsg.: Strichartz G., Springer, Berlin; S. 1 - 19
- Wange J. (2006)
Synthese, Racemattrennung und pharmakologische Prüfung neuer
chiraler Fomocainderivate.
Dissertation, Biologisch-Pharmazeutische Fakultät, Friedrich-Schiller-
Universität Jena.
- Wennek-Klose J. (2005)
Einschlussverbindungen von Fomocain und neuen Fomocain-
Derivaten zur parenteralen und nasalen Applikation.
Dissertation, Biologisch-Pharmazeutische Fakultät, Friedrich-Schiller-
Universität Jena.
- www.setylose.de
<http://www.setylose.de/wDeutsch/grundlagen/index.php?navid=7>
- Zimmermann M. (2003)
Anatomie und Physiologie des nozizeptiven Systems.
In: Lokalanästhesie, Regionalanästhesie, Regionale Schmerztherapie.
Hrsg.: Niesel H.C., van Aken H., Thieme, Stuttgart, New York,
2. Auflage; S. 4 - 10
- Zink W., Graf B.M. (2003)
Toxikologie der Lokalanästhetika.
Anaesthesist 52: 1102 - 1123

9 Anhang

9.1 Oberflächenanästhesie

Tabelle 7: Abhängigkeit der Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte von der Konzentration des Fomocain und der Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 0,5 % **Tylose** gelöst, n = 6 Tiere pro Gruppe. Angabe der getesteten Konzentrationen und der zugehörigen mittleren Anästhesiedauer \pm Standardfehler [min]; - = Konzentration nicht getestet.
(Angaben zu Fomo-Base pH 5 aus Loy (2003), Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5, OW 9, OW 11, Fomo-Cyc aus Fleck et al. (2004))

Substanz	Konzentration [%]													
	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,50	0,75	1,00	1,25	1,50	2,00	3,00	4,00
Fomo-HCl	-	-	-	-	-	-	37 \pm 1	-	167 \pm 10	-	-	179 \pm 1	-	-
Fomo-Base pH 5	-	-	-	18 \pm 6	-	-	52 \pm 17	-	117 \pm 29	-	-	-	-	-
Fomo-Base pH 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28 \pm 5	-	35 \pm 2	58 \pm 5	57 \pm 4
Fomo-Cyc	-	-	-	-	-	-	62 \pm 5	141 \pm 16	164 \pm 14	-	-	-	-	-
OW 1	-	-	-	-	-	-	33 \pm 2	46 \pm 4	117 \pm 3	-	-	-	-	-
OW 3	-	-	-	-	-	-	53 \pm 2	97 \pm 7	126 \pm 8	-	-	-	-	-
OW 5	-	-	-	-	-	-	44 \pm 3	-	64 \pm 6	-	-	115 \pm 5	-	-
OW 7	12 \pm 1	-	43 \pm 3	-	88 \pm 12	-	108 \pm 5	-	103 \pm 6	-	-	107 \pm 8	-	-
OW 9	-	-	-	-	-	-	29 \pm 1	-	64 \pm 1	> 180	> 180	-	-	-
OW 11	-	-	-	-	-	-	29 \pm 2	-	63 \pm 1	-	> 180	-	-	-
OW 13	11 \pm 1	-	-	38 \pm 5	27 \pm 5	-	69 \pm 4	-	-	-	-	-	-	-
OW 15	-	-	-	12 \pm 1	-	-	17 \pm 4	-	17 \pm 4	-	40 \pm 5	74 \pm 5	-	-
Oe 100	20 \pm 1	-	-	59 \pm 2	-	84 \pm 7	> 180	-	> 180	-	-	-	-	-
OZ 9	-	-	-	-	-	-	-	-	20 \pm 2	-	-	30 \pm 1	51 \pm 4	-
Oe 5555	-	-	-	-	-	-	-	-	12 \pm 1	-	-	24 \pm 1	17 \pm 2	-
Oe 3000	-	-	-	-	-	-	18 \pm 1	-	38 \pm 3	-	-	92 \pm 9	-	-
Oe 2000	-	-	-	-	-	-	36 \pm 6	150 \pm 1	175 \pm 5	-	-	> 180	-	-
Oe 4000	-	-	-	37 \pm 4	-	-	88 \pm 8	155 \pm 8	-	-	-	-	-	-
Oe 3500	-	-	-	-	-	-	36 \pm 1	-	72 \pm 9	-	-	> 180	-	-
Oe 2500	-	-	-	20 \pm 3	-	-	43 \pm 5	133 \pm 11	140 \pm 15	-	-	-	-	-
Oe 4500	-	23 \pm 4	-	52 \pm 8	-	-	112 \pm 13	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 8: Abhängigkeit der Dauer der Oberflächenanästhesie an der Cornea der Ratte von der Konzentration ausgewählter Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 50 % **Propylenglycol** gelöst, $n = 6$ Tiere pro Gruppe. Angabe der getesteten Konzentrationen und der zugehörigen mittleren Anästhesiedauer \pm Standardfehler [min]; - = Konzentration nicht getestet.

Substanz	Konzentration [%]								
	0,05	0,10	0,25	0,50	0,75	1,00	1,50	2,00	3,00
OW 7	-	-	-	49 \pm 9	-	82 \pm 8	-	164 \pm 16	-
OW 13	10 \pm 1	16 \pm 2	38 \pm 5	38 \pm 3	-	54 \pm 6	-	67 \pm 8	-
OW 15	-	-	-	11 \pm 2	-	21 \pm 1	48 \pm 3	-	-
Oe 100	-	-	16 \pm 2	37 \pm 4	-	67 \pm 7	-	-	-
OZ 9	-	-	-	-	-	27 \pm 2	-	43 \pm 2	82 \pm 12
Oe 5555	-	-	-	-	-	14 \pm 1	-	19 \pm 1	14 \pm 2
Oe 3000	-	-	-	-	-	14 \pm 2	-	27 \pm 2	28 \pm 2
Oe 2000	-	-	-	22 \pm 1	-	36 \pm 1	95 \pm 4	176 \pm 4	-
Oe 4000	-	-	19 \pm 3	37 \pm 2	49 \pm 7	-	-	-	-
Oe 3500	-	-	-	-	-	23 \pm 3	-	31 \pm 7	51 \pm 2
Oe 2500	-	-	15 \pm 2	33 \pm 5	57 \pm 1	-	-	-	-
Oe 4500	-	-	14 \pm 2	33 \pm 3	46 \pm 3	-	-	-	-

Tabelle 9: Überblick der effektiven Konzentrationen (EC) mit Angabe der unteren (UIG) und oberen Intervallgrenze (OIG) des 95%-Konfidenzintervalles für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten an der Cornea der Ratte für Fomocain und verschiedene Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 0,5 % **Tylose** gelöst.
(Angaben zu Fomo-Base pH 5 aus Loy (2003), Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5, OW 9, OW 11 und Fomo-Cyc aus Fleck et al. (2004)).

Substanz	10 min			20 min			30 min			40 min		
	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG
Fomo-HCl	0,40	0,47	0,53	0,43	0,49	0,56	0,46	0,52	0,58	0,49	0,55	0,60
Fomo-Base pH 5	0,18	0,24	0,30	0,22	0,28	0,34	0,26	0,32	0,38	0,30	0,36	0,43
Fomo-Base pH 7	0,24	0,52	0,88	0,45	0,79	1,18	0,82	1,20	1,60	1,44	1,84	2,27
Fomo-Cyc	0,12	0,34	0,86	0,14	0,36	0,88	0,16	0,39	0,90	0,18	0,42	0,93
OW 1	0,37	0,45	0,52	0,42	0,49	0,56	0,46	0,53	0,60	0,52	0,58	0,64
OW 3	0,26	0,33	0,40	0,30	0,36	0,43	0,34	0,40	0,46	0,38	0,44	0,50
OW 5	0,20	0,29	0,39	0,25	0,35	0,46	0,32	0,43	0,54	0,41	0,52	0,63
OW 7	0,04	0,07	0,11	0,06	0,09	0,14	0,09	0,12	0,17	0,12	0,17	0,22
OW 9	0,34	0,48	0,61	0,38	0,51	0,64	0,42	0,55	0,68	0,46	0,59	0,71
OW 11	0,39	0,51	0,62	0,43	0,54	0,65	0,46	0,57	0,69	0,50	0,61	0,72
OW 13	0,08	0,11	0,14	0,12	0,15	0,19	0,17	0,20	0,24	0,23	0,28	0,33
OW 15	0,21	0,34	0,48	0,36	0,51	0,67	0,58	0,76	0,98	0,87	1,13	1,54
Oe 100	0,08	0,10	0,13	0,09	0,12	0,14	0,11	0,13	0,16	0,12	0,15	0,18
OZ 9	0,51	0,75	0,97	0,85	1,10	1,34	1,36	1,60	1,86	1,99	2,34	2,82
Oe 5555	0,67	0,92	1,16	1,37	1,61	1,96	2,06	2,83	4,49	10,93	4,96	2,93
Oe 3000	0,37	0,48	0,60	0,46	0,58	0,70	0,58	0,70	0,82	0,72	0,84	0,98
Oe 2000	0,14	0,20	0,27	0,17	0,23	0,30	0,19	0,26	0,33	0,22	0,29	0,37
Oe 4000	0,07	0,20	0,38	0,08	0,22	0,40	0,10	0,25	0,43	0,13	0,28	0,45
Oe 3500	0,36	0,44	0,52	0,40	0,48	0,57	0,45	0,53	0,62	0,50	0,59	0,67
Oe 2500	0,20	0,26	0,32	0,22	0,28	0,35	0,25	0,31	0,38	0,29	0,35	0,41
Oe 4500	0,10	0,13	0,17	0,12	0,15	0,19	0,14	0,17	0,21	0,16	0,20	0,23

Tabelle 10: Überblick der effektiven Konzentrationen (EC) mit Angabe der unteren (UIG) und oberen Intervallgrenze (OIG) des 95%-Konfidenzintervalles für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten an der Cornea der Ratte für Fomocain und verschiedene Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 50 % **Propylenglycol** gelöst.
n. b. = nicht bestimmbar

Substanz	10 min			20 min			30 min			40 min		
	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG
OW 7	0,22	0,35	0,49	0,26	0,39	0,54	0,30	0,44	0,59	0,36	0,50	0,65
OW 13	0,03	0,06	0,11	0,07	0,12	0,18	0,15	0,22	0,31	0,30	0,41	0,55
OW 15	0,41	0,53	0,65	0,62	0,73	0,85	0,88	1,01	1,18	1,17	1,40	1,75
Oe 100	0,16	0,22	0,29	0,22	0,29	0,36	0,31	0,38	0,46	0,42	0,50	0,59
OZ 9	0,42	0,77	1,14	0,59	0,95	1,32	0,82	1,17	1,53	1,11	1,46	1,82
Oe 5555	0,13	0,57	1,16	2,45	2,25	6,76	2,23	10,50	n. b.	3,25	44,93	n. b.
Oe 3000	0,47	0,76	1,07	1,15	1,44	1,75	2,21	2,76	3,69	3,51	5,27	9,35
Oe 2000	0,44	0,55	0,67	0,49	0,61	0,72	0,55	0,67	0,79	0,62	0,74	0,85
Oe 4000	0,10	0,18	0,27	0,18	0,26	0,35	0,30	0,38	0,47	0,44	0,55	0,71
Oe 3500	0,29	0,65	1,09	0,58	0,99	1,41	1,09	1,49	1,91	1,74	2,24	3,07
Oe 2500	0,19	0,23	0,28	0,26	0,31	0,35	0,36	0,40	0,45	0,41	0,51	0,63
Oe 4500	0,17	0,22	0,27	0,26	0,31	0,36	0,39	0,44	0,49	0,55	0,62	0,73

9.2 Leitungsanästhesie

Tabelle 11: Abhängigkeit der Dauer der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte von der Konzentration des Fomocain und der Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 0,5 % **Tylose** gelöst, n = 6 Tiere pro Gruppe. Angabe der getesteten Konzentrationen und der zugehörigen mittleren Anästhesiedauer \pm Standardfehler [min]; - = Konzentration nicht getestet.
(Angaben zu Fomo-Base pH 5 aus Loy (2003), Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5, OW 9, OW 11 und Fomo-Cyc aus Fleck et al. (2004))

Substanz	Konzentration [%]							
	0,50	1,00	1,50	2,00	3,00	4,00	4,50	5,00
Fomo-HCl	31 \pm 6	38 \pm 6	72 \pm 18	-	-	-	-	-
Fomo-Base pH 5	0	4 \pm 2	-	4 \pm 1	30 \pm 15	-	-	-
Fomo-Base pH 7	-	-	-	0	34 \pm 6	74 \pm 15	-	-
Fomo-Cyc	-	30 \pm 3	-	35 \pm 4	63 \pm 3	-	-	-
OW 1	-	10 \pm 2	-	24 \pm 4	41 \pm 10	-	-	-
OW 3	-	-	22 \pm 2	56 \pm 8	46 \pm 4	-	-	-
OW 5	-	0	-	0	0	-	-	-
OW 7	-	18 \pm 3	-	18 \pm 2	32 \pm 6	59 \pm 18	-	-
OW 9	-	0	-	21 \pm 2	41 \pm 8	69 \pm 12	-	-
OW 11	-	37 \pm 1	-	99 \pm 10	170 \pm 16	222 \pm 20	-	-
OW 13	-	5 \pm 1	17 \pm 2	31 \pm 6	-	-	-	-
OW 15	-	-	-	-	17 \pm 2	28 \pm 9	30 \pm 5	108 \pm 15
Oe 100	-	65 \pm 8	-	110 \pm 4	140 \pm 1	-	-	-
OZ 9	-	0	0	22 \pm 3	21 \pm 15	-	-	-
Oe 5555	-	12 \pm 1	-	34 \pm 8	93 \pm 9	-	-	-
Oe 3000	-	21 \pm 3	-	19 \pm 2	14 \pm 3	-	-	-
Oe 2000	-	65 \pm 11	-	57 \pm 8	50 \pm 9	-	-	-
Oe 4000	30 \pm 3	52 \pm 5	-	82 \pm 7	-	-	-	-
Oe 3500	39 \pm 5	77 \pm 9	-	93 \pm 16	-	-	-	-
Oe 2500	-	10 \pm 3	41 \pm 6	93 \pm 9	-	-	-	-
Oe 4500	17 \pm 2	59 \pm 13	-	72 \pm 8	-	-	-	-

Tabelle 12: Abhängigkeit der Dauer der Leitungsanästhesie am N. ischiadicus der Ratte von der Konzentration ausgewählter Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 50 % **Propylenglycol** gelöst, n = 6 Tiere pro Gruppe. Angabe der getesteten Konzentrationen und der zugehörigen mittleren Anästhesiedauer \pm Standardfehler [min]; - = Konzentration nicht getestet.

Substanz	Konzentration [%]									
	0,25	0,50	0,75	1,00	1,50	2,00	2,50	3,00	3,50	4,00
OW 7	-	-	-	24 \pm 5	-	67 \pm 3	-	113 \pm 2	-	126 \pm 6
OW 13	-	0	29 \pm 4	96 \pm 5	-	-	-	-	-	-
OW 15	-	-	-	-	-	0	-	45 \pm 7	49 \pm 8	113 \pm 13
Oe 100	0	31 \pm 2	70 \pm 6	-	-	-	-	-	-	-
OZ 9	-	-	-	5 \pm 0	6 \pm 0	23 \pm 3	-	-	-	-
Oe 5555	-	-	-	16 \pm 2	-	37 \pm 5	-	74 \pm 4	-	-
Oe 3000	-	-	-	16 \pm 3	-	22 \pm 2	-	42 \pm 2	-	-
Oe 2000	-	-	-	-	-	8 \pm 1	50 \pm 5	37 \pm 7	-	-
Oe 4000	-	-	-	0	-	32 \pm 4	-	45 \pm 3	-	-
Oe 3500	-	-	-	13 \pm 2	-	40 \pm 8	-	73 \pm 6	-	-
Oe 2500	-	-	-	11 \pm 3	105 \pm 6	83 \pm 8	-	-	-	-
Oe 4500	-	28 \pm 3	-	41 \pm 10	-	87 \pm 14	-	-	-	-

Tabelle 13: Überblick der effektiven Konzentrationen (EC) mit Angabe der oberen (OIG) und unteren Intervallgrenze (UIG) des 95%-Konfidenzintervalles für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten am N. ischiadicus der Ratte für Fomocain und verschiedene Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 0,5 % Tylose gelöst.

k. W. = keine Wirkung; n. b. = nicht bestimmbar

(Angaben zu Fomo-Base pH 5 aus Loy (2003), Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5, OW 9, OW 11 und Fomo-Cyc aus Fleck et al. (2004))

Substanz	10 min			20 min			30 min			40 min		
	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG
Fomo-HCl	0,03	0,31	0,88	0,06	0,42	0,93	0,15	0,56	1,02	0,35	0,75	1,22
Fomo-Base pH 5	0,98	1,53	2,57	1,87	3,71	11,80	2,99	8,99	37,00	4,62	21,79	65,09
Fomo-Base pH 7	1,91	2,25	2,57	2,16	2,48	2,79	2,42	2,73	3,04	2,69	3,00	3,37
Fomo-Cyc	0,33	0,47	0,63	0,57	0,74	0,92	0,98	1,17	1,36	1,63	1,84	2,07
OW 1	0,65	1,06	1,47	1,13	1,52	1,95	1,69	2,18	3,01	2,21	3,13	5,30
OW 3	0,004	0,67	3,27	0,03	0,96	2,95	0,18	1,37	2,72	0,97	1,95	3,00
OW 5	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.
OW 7	0,36	1,03	1,85	0,67	1,40	2,21	1,17	1,90	2,86	1,73	2,59	4,33
OW 9	1,16	1,75	2,29	1,48	2,03	2,51	2,80	2,36	1,87	2,31	2,74	3,20
OW 11	0,67	0,94	1,22	0,74	1,01	1,29	0,81	1,08	1,36	0,89	1,16	1,44
OW 13	0,94	1,19	1,41	1,34	1,54	1,78	1,68	2,00	2,56	1,98	2,58	3,90
OW 15	3,72	3,17	2,46	2,79	3,41	3,90	3,15	3,67	4,12	3,50	3,96	4,42
Oe 100	0,33	0,45	0,59	0,39	0,52	0,67	0,47	0,61	0,75	0,56	0,70	0,85
OZ 9	1,37	1,63	1,96	1,89	2,42	3,45	2,44	3,59	6,49	3,10	5,32	12,39
Oe 5555	0,81	1,10	1,39	0,98	1,27	1,55	1,18	1,46	1,75	1,40	1,68	1,99
Oe 3000	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Oe 2000	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Oe 4000	0,18	0,30	0,45	0,25	0,39	0,55	0,37	0,52	0,67	0,52	0,67	0,84
Oe 3500	0,05	0,22	0,50	0,09	0,29	0,58	0,14	0,37	0,67	0,22	0,47	0,77
Oe 2500	0,95	1,05	1,15	1,05	1,15	1,24	1,17	1,26	1,34	1,29	1,37	1,46
Oe 4500	0,15	0,36	0,64	0,23	0,47	0,75	0,35	0,61	0,89	0,52	0,79	1,08

Tabelle 14: Überblick der effektiven Konzentrationen (EC) mit Angabe der oberen (OIG) und unteren Intervallgrenze (UIG) des 95%-Konfidenzintervalles für eine Anästhesiedauer von 10, 20, 30 und 40 Minuten am N. ischiadicus der Ratte für Fomocain und verschiedene Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 50 % **Propylenglycol** gelöst.

Substanz	10 min			20 min			30 min			40 min		
	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG	UIG	EC	OIG
OW 7	1,07	1,22	1,37	1,19	1,33	1,47	1,31	1,45	1,59	1,55	1,69	1,81
OW 13	0,37	0,43	0,49	0,43	0,48	0,54	0,48	0,54	0,59	0,55	0,60	0,65
OW 15	1,86	2,33	2,72	2,06	2,49	2,84	2,28	2,66	2,99	2,51	2,85	3,15
Oe 100	0,18	0,24	0,30	0,24	0,31	0,37	0,33	0,40	0,47	0,44	0,52	0,60
OZ 9	0,85	1,28	1,67	1,44	1,83	2,51	1,79	2,63	5,16	2,06	3,78	11,39
Oe 5555	0,77	0,96	1,15	0,98	1,16	1,35	1,23	1,42	1,60	1,53	1,72	1,93
Oe 3000	0,54	0,84	1,16	1,02	1,32	1,63	1,73	2,09	2,58	2,51	3,30	4,77
Oe 2000	1,09	1,81	2,33	1,51	2,08	2,48	2,01	2,39	2,74	2,38	2,74	3,05
Oe 4000	1,11	1,25	1,38	1,45	1,59	1,73	1,85	2,02	2,21	2,31	2,57	2,89
Oe 3500	0,75	0,99	1,23	0,96	1,20	1,43	1,22	1,45	1,69	1,51	1,76	2,04
Oe 2500	0,58	0,87	1,13	0,67	0,95	1,20	0,78	1,04	1,28	0,89	1,14	1,37
Oe 4500	0,15	0,37	0,67	0,22	0,47	0,77	0,32	0,59	0,89	0,47	0,75	1,06

9.3 Parese

Tabelle 15: Abhängigkeit der Dauer der Parese am *N. ischiadicus* der Ratte von der Konzentration des Fomocain und der Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 0,5 % **Tylose** gelöst. Angabe der getesteten Konzentrationen und der zugehörigen mittleren Paresedauer \pm Standardfehler [min]; Tiere, bei denen keine Parese auftrat, wurden für die Berechnung nicht berücksichtigt; In Klammern ist die Anzahl der betroffenen Tiere von $n = 6$ Tieren pro Gruppe angegeben. - = Konzentration nicht getestet.
(Angaben zu Fomo-Base pH 5 aus Loy (2003), Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5, OW 9, OW 11 und Fomo-Cyc aus Fleck et al. (2004))

Substanz	Konzentration [%]							
	0,50	1,00	1,50	2,00	3,00	4,00	4,50	5,00
Fomo-HCl	0	0	0	-	-	-	-	-
Fomo-Base pH 5	0	25 \pm 12 (6)	-	74 \pm 35 (6)	131 \pm 71 (6)	-	-	-
Fomo-Base pH 7	-	-	-	0	0	0	-	-
Fomo-Cyc	-	0	-	0	-	0	-	-
OW 1	-	0	-	44 \pm 8 (4)	91 \pm 16 (6)	-	-	-
OW 3	-	-	37 \pm 7 (6)	85 \pm 11 (6)	126 \pm 7 (6)	-	-	-
OW 5	-	0	-	0	0	-	-	-
OW 7	-	0	-	0	0	0	-	-
OW 9	-	0	-	42 \pm 4 (3)	48 \pm 5 (5)	83 \pm 15 (6)	-	-
OW 11	-	0	-	0	78 \pm 18 (2)	63 \pm 17 (6)	-	-
OW 13	-	0	0	0	-	-	-	-
OW 15	-	-	-	-	0	35 \pm 14 (2)	38 \pm 15 (5)	33 \pm 11 (2)
Oe 100	-	0	-	0	0	-	-	-
OZ 9	-	-	0	0	0	-	-	-
Oe 5555	-	0	-	0	0	-	-	-
Oe 3000	-	0	-	17 \pm 1 (2)	13 (1)	-	-	-
Oe 2000	-	0	-	0	0	-	-	-
Oe 4000	0	0	-	0	-	-	-	-
Oe 3500	0	71 \pm 7 (3)	-	137 \pm 19 (6)	-	-	-	-
Oe 2500	-	0	25 \pm 2 (3)	0	-	-	-	-
Oe 4500	0	0	-	0	-	-	-	-

Tabelle 16: Abhängigkeit der Dauer der Parese am N. ischiadicus der Ratte von der Konzentration ausgewählter Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 50 % **Propylenglycol** gelöst. Angabe der getesteten Konzentrationen und der zugehörigen mittleren Paresedauer \pm Standardfehler [min]; Tiere, bei denen keine Parese auftrat, wurden für die Berechnung nicht berücksichtigt; In Klammern ist die Anzahl der betroffenen Tiere von n = 6 Tieren pro Gruppe angegeben. - = Konzentration nicht getestet.

Substanz	Konzentration [%]									
	0,25	0,50	0,75	1,00	1,50	2,00	2,50	3,00	3,50	4,00
OW 7	-	-	-	0	-	0	-	0	-	0
OW 13	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-
OW 15	-	-	-	-	-	0	-	0	0	0
Oe 100	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-
OZ 9	-	-	-	0	0	0	-	0	-	-
Oe 5555	-	-	-	0	-	0	-	0	-	-
Oe 3000	-	-	-	0	-	0	-	46 \pm 5 (3)	-	-
Oe 2000	-	-	-	-	-	0	28 \pm 6 (3)	12 \pm 3 (4)	-	-
Oe 4000	-	-	-	0	-	0	-	0	-	-
Oe 3500	-	-	-	0	-	0	-	188 \pm 5 (2)	-	-
Oe 2500	-	-	-	0	0	0	-	-	-	-
Oe 4500	-	0	-	0	-	0	-	-	-	-

9.4 LD₅₀

Tabelle 17: Dosis-Abhängigkeit der Letalität für verschiedene Fomocainzubereitungen und Fomocainderivate. Alle Substanzen wurden in 0,5 % **Tylose** gelöst. Angabe der approximativen Letalität nach Miller und Tainter (1944); LD₅₀ ± Streuung nach intraperitonealer Applikation an der Ratte.
(Angabe zu Fomo-Base pH 5 aus Loy (2003), Angaben zu OW 1, OW 3, OW 5, OW 9, OW 11 und Fomo-Cyc aus Fleck et al. (2004))

Substanz	Dosis [g/kg KM]	Anzahl gestorbener Tiere (n = 6)	Letalität [%]	Probit	LD ₅₀ [g/kg KM]
Fomo-HCl	0,20	0	0	3,04	0,35 ± 0,016
	0,30	0	0	3,04	
	0,35	1	17	4,03	
	0,40	6	100	6,96	
Fomo-Base pH 5	0,15	2	33	4,55	0,20 ± 0,036
	0,20	3	50	5,00	
	0,30	5	83	5,94	
Fomo-Base pH 7	0,60	0	0	3,04	0,92 ± 0,051
	0,90	2	33	4,55	
	1,20	6	100	6,96	
Fomo-Cyc	0,32	0	0	3,04	0,54 ± 0,03
	0,47	1	17	4,03	
	0,55	4	67	5,43	
	0,64	5	83	5,94	
OW 1	0,10	0	0	3,04	0,27 ± 0,023
	0,20	1	17	4,03	
	0,30	3	50	5,00	
	0,40	6	100	6,96	
OW 3	0,20	0	0	3,04	0,33 ± 0,026
	0,30	3	50	5,00	
	0,50	6	100	6,96	
OW 5	0,20	0	0	3,04	0,29 ± 0,017
	0,30	4	67	5,43	
	0,40	6	100	6,96	
OW 7	0,20	0	0	3,04	> 0,6
	0,40	0	0	3,04	
	0,60	0	0	3,04	
OW 9	0,20	1	17	4,03	0,24 ± 0,011
	0,25	3	50	5,00	
	0,30	6	100	6,96	
OW 11	0,20	0	0	3,04	0,27 ± 0,016
	0,25	3	50	5,00	
	0,30	5	83	5,94	
	0,40	6	100	6,96	

Fortsetzung Tab. 17:

Substanz	Dosis [g/kg KM]	Anzahl gestorbener Tiere (n = 6)	Letalität [%]	Probit	LD ₅₀ [g/kg KM]
OW 13	0,20 0,30 0,40	0 4 6	0 67 100	3,04 5,43 6,96	0,29 ± 0,017
OW 15	0,20 0,30 0,35 0,40	0 1 3 6	0 17 50 100	3,04 4,03 5,00 6,96	0,33 ± 0,016
Oe 100	0,20 0,30 0,40	0 3 5	0 50 83	3,04 5,00 5,94	0,32 ± 0,028
OZ 9	0,20 0,30 0,40	0 0 0	0 0 0	3,04 3,04 3,04	> 0,4
Oe 5555	0,20 0,30 0,40	0 0 0	0 0 0	3,04 3,04 3,04	> 0,4
Oe 3000	0,10 0,20 0,30 0,40	0 0 0 5	0 0 0 83	3,04 3,04 3,04 5,94	0,39 ± 0,033
Oe 2000	0,10 0,20 0,40	0 2 6	0 33 100	3,04 4,55 6,96	0,24 ± 0,026
Oe 4000	0,30 0,35 0,36 0,40	0 1 5 6	0 17 83 100	3,04 4,03 5,94 6,96	0,37 ± 0,077
Oe 3500	0,05 0,10 0,20	0 3 6	0 50 100	3,04 5,00 6,96	0,12 ± 0,013
Oe 2500	0,10 0,15 0,20 0,40	0 5 6 6	0 83 100 100	3,04 5,94 6,96 6,96	0,14 ± 0,03
Oe 4500	0,05 0,10 0,20 0,30	0 6 6 6	0 100 100 100	3,04 6,96 6,96 6,96	0,08 ± 0,024

Tabelle 18: Dosis-Abhängigkeit der Letalität für ausgewählte Fomocainderivate, die in 50 % **Propylenglycol** gelöst wurden. Angabe der approximativen Letalität nach Miller und Tainter (1944); $LD_{50} \pm$ Streuung nach intraperitonealer Applikation an der Ratte.

Substanz	Dosis [g/kg KM]	Anzahl gestorbener Tiere (n = 6)	Letalität [%]	Probit	LD_{50} [g/kg KM]
OW 7	0,10	0	0	3,04	$0,47 \pm 0,059$
	0,20	0	0	3,04	
	0,25	1	17	4,03	
OW 13	0,20	0	0	3,04	$0,29 \pm 0,017$
	0,30	4	67	5,43	
	0,40	6	100	6,96	
OW 15	0,20	0	0	3,04	$0,37 \pm 0,028$
	0,30	1	17	4,03	
	0,40	4	67	5,43	
Oe 100	0,10	1	17	4,03	$0,16 \pm 0,036$
	0,20	5	83	5,94	
	0,40	6	100	6,96	
OZ 9	0,20	0	0	3,04	$> 0,4$
	0,30	0	0	3,04	
	0,40	0	0	3,04	
Oe 5555	0,20	0	0	3,04	$> 0,4$
	0,30	0	0	3,04	
	0,40	0	0	3,04	
Oe 3000	0,10	0	0	3,04	$0,29 \pm 0,033$
	0,30	4	67	5,43	
	0,40	5	83	5,94	
Oe 2000	0,10	0	0	3,04	$0,22 \pm 0,027$
	0,20	4	67	5,43	
	0,40	6	100	6,96	
Oe 4000	0,10	0	0	3,04	$0,21 \pm 0,016$
	0,15	0	0	3,04	
	0,30	6	100	6,96	
Oe 3500	0,05	0	0	3,04	$0,11 \pm 0,014$
	0,10	4	67	5,43	
	0,20	6	100	6,96	
Oe 2500	0,05	0	0	3,04	$0,10 \pm 0,014$
	0,10	5	83	5,94	
	0,20	6	100	6,96	
Oe 4500	0,15	0	0	3,04	$0,18 \pm 0,014$
	0,17	4	67	5,43	
	0,20	6	100	6,96	
	0,30	6	100	6,96	

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erklären wir, dass wir die vorliegende Arbeit selbständig und ausschließlich unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt haben.

Die einzelnen Kapitel wurden wie folgt bearbeitet:

Inhalts- und Abkürzungsverzeichnis:	T. Zwenzner
Zusammenfassung:	C. Eisentraut und T. Zwenzner
Einleitung:	C. Eisentraut und T. Zwenzner
Ziele der Arbeit:	C. Eisentraut und T. Zwenzner
Material und Methoden:	C. Eisentraut und T. Zwenzner
Ergebnisse	
verschiedene Fomocainzubereitungen:	T. Zwenzner
C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten:	C. Eisentraut
Andere Morpholinderivate:	C. Eisentraut
Thiofomocainderivate:	T. Zwenzner
Einfluss der Lösungsmittel Tylose und PG:	C. Eisentraut und T. Zwenzner
Diskussion	
verschiedene Fomocainzubereitungen:	T. Zwenzner
C-Alkylmorpholine mit unverzweigten Seitenketten:	C. Eisentraut
Andere Morpholinderivate:	C. Eisentraut
Thiofomocainderivate:	T. Zwenzner
Einfluss der Lösungsmittel Tylose und PG:	C. Eisentraut und T. Zwenzner
Schlussfolgerungen	C. Eisentraut und T. Zwenzner
Anhang	T. Zwenzner
Literaturverzeichnis	C. Eisentraut

Jena, 15.06.2006

C. Eisentraut

T. Zwenzner

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erklären wir, dass uns die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

uns folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Material sowie bei der Herstellung des Manuskriptes unterstützt haben: Herr Prof. Dr. med. C. Fleck, Herr Prof. Dr. Dres. h.c. H. Oelschläger, Frau PD Dr. med. A. Lupp, Herr Dr. R. Vollandt, Herr Dr. J. Wange, Herr Apotheker T. Dahse und Frau E. Karge,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von uns für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass wir die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht haben und

dass wir die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht haben.

Jena, 15.06.2006

Claudia Eisentraut

Tobias Zwenzner

L e b e n s l a u f

Name:	Eisentraut
Vorname:	Claudia
Geburtsdatum:	05.10.1981
Geburtsort:	Gera
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Anschrift:	Jenaer Str. 3, 07639 Bad Klosterlausnitz
09/1988 - 07/1992	Staatliche Grundschule in Bad Klosterlausnitz
09/1992 - 07/2000	Staatliches Holzlandgymnasium in Hermsdorf
07/2000	Erlangen der Allgemeinen Hochschulreife (Abitur)
10/2000	Immatrikulation zum Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität in Jena
03/2003	Zahnärztliche Vorprüfung
seit 12/2003	Promotion am Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Klinikums der FSU Jena
07/2005 - 12/2005	Hochschulabschluss (Staatsexamen) mit der Zahnärztlichen Prüfung
seit 04/2006	Immatrikulation als Promotionsstudentin an der Friedrich-Schiller-Universität in Jena
ab 09/2006	Assistenz Zahnärztin in der Praxis Dr. J. Pertsch in Hermsdorf

Jena, 15.06.2006

Claudia Eisentraut

L e b e n s l a u f

Name:	Zwenzner
Vorname:	Tobias
Geburtsdatum:	23.02.1981
Geburtsort:	Zeitz
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Anschrift:	Lutherstraße 66, 07743 Jena
09/1987 - 07/1991	Staatliche Grundschule in Zeitz
09/1991 - 07/1999	Otto-Baensch-Gymnasium in Zeitz
07/1999	Erlangen der Allgemeinen Hochschulreife (Abitur)
10/1999 - 09/2000	Zivildienst im Alten- und Pflegeheim St. Marienstift in Zeitz
10/2000	Immatrikulation zum Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität in Jena
03/2003	Zahnärztliche Vorprüfung
seit 12/2003	Promotion am Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Klinikums der FSU Jena
07/2005 - 12/2005	Hochschulabschluss (Staatsexamen) mit der Zahnärztlichen Prüfung
seit 05/2006	Assistenz Zahnarzt in der Praxis Dr. H. Baumann in Bayreuth

Jena, 15.06.2006

Tobias Zwenzner

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von Dezember 2003 bis Juni 2006 im Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena angefertigt.

Wir danken besonders Herrn Prof. Dr. C. Fleck für die freundliche Überlassung des Promotionsthemas sowie die hervorragende Betreuung.

Wir danken Herrn Prof. Dr. Dres. h.c. H. Oelschläger, ehem. Direktor des Institutes für Pharmazie der FSU Jena, für die uns zur Verfügung gestellten Testsubstanzen.

Wir danken Frau PD Dr. A. Lupp, Herrn Dr. R. Vollandt, Herrn Dr. J. Wange, Herrn Apotheker T. Dahse und Frau E. Karge für ihre Hilfe bei Problemen und Fragen.

Des Weiteren danken wir den Mitarbeiterinnen Frau A. Berthold, Frau H. Bechmann und Frau S. Reuter für die technische Assistenz bei den Versuchen.

Außerdem möchten wir herzlich unseren Familien danken, die uns bei unserem Studium und unserer Promotionsarbeit sehr unterstützt haben.